

# **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**



## **LA EXPRESIÓN DE LA QUIMIOCINA CXCL17 Y EL RECEPTOR CXCR4 EN PACIENTES CON COLITIS ULCERATIVA CRÓNICA INESPECÍFICA**

**POR**

**DRA. CLAUDIA GABRIELA LUNA LIMON**

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN  
ANATOMÍA PATOLÓGICA Y CITOPATOLOGÍA**

**DICIEMBRE 2021**

# **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**

**HOSPITAL UNIVERSITARIO**

**“DR. JOSÉ ELEUTERIO GONZÁLEZ”**

**SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA Y CITOPATOLOGÍA**



## **LA EXPRESIÓN DE LA QUIMIOCINA CXCL17 Y EL RECEPTOR CXCR4 EN PACIENTES CON COLITIS ULCERATIVA CRÓNICA INESPECÍFICA**

**PRESENTA**

**DRA. CLAUDIA GABRIELA LUNA LIMON**

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN  
ANATOMÍA PATOLÓGICA Y CITOPATOLOGÍA**

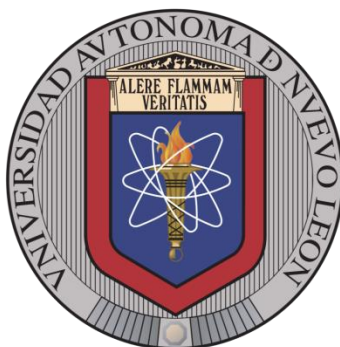
**DIRECTOR: DR. MED. JUAN PABLO FLORES GUTIERREZ**

**CO DIRECTOR: DRA. NATALIA VILCHES CISNEROS**

**MONTERREY, N.L., MÉXICO**

**DICIEMBRE 2021**

# **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**



## **LA EXPRESIÓN DE LA QUIMIOCINA CXCL17 Y EL RECEPTOR CXCR4 EN PACIENTES CON COLITIS ULCERATIVA CRÓNICA INESPECÍFICA**

### **TESIS**

**DRA. CLAUDIA GABRIELA LUNA LIMON**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA  
EN ANATOMÍA PATOLÓGICA Y CITOPATOLOGÍA**


**DICIEMBRE 2021**

# UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEÓN

HOSPITAL UNIVERSITARIO  
"DR. JOSE ELEUTERIO GONZALEZ"  
SERVICIO DE ANATOMIA PATOLOGICA Y CITOPATOLOGIA

## LA EXPRESIÓN DE LA QUIMIOCINA CXCL17 Y EL RECEPTOR CXCR4 EN PACIENTES CON COLITIS ULCERATIVA CRÓNICA INESPECÍFICA

### Aprobación de Tesis




---

Dra. Med. Juan Pablo Flores Gutiérrez  
Director de Tesis



---

Dra. Natalia Vilches Cisneros  
Codirector de tesis



---

Dra. Natalia Vilches Cisneros  
Coordinador de enseñanza



---

Dr. Med. Juan Pablo Flores Gutiérrez  
Coordinador de Investigación



---

Dra. Med. Oralia Barboza Quintana  
Jefe del Servicio



---

Dr. Med. Felipe Arturo Morales Martínez  
Subdirector de Estudios de Posgrado

**LA EXPRESIÓN DE LA QUIMIOCINA CXCL17 Y EL RECEPTOR  
CXCR4 EN PACIENTES CON COLITIS ULCERATIVA CRÓNICA  
INESPECÍFICA**

**PRESENTADO POR:**

**DRA. CLAUDIA GABRIELA LUNA LIMON**

**Este trabajo se realizó en el Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología  
del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” bajo la dirección del  
Dr. Med. Juan Pablo Flores Gutiérrez y la codirección del Dra. Natalia Vilches  
Cisneros.**



**Dra. Med. Oralia Barboza Quintana**

**Jefe del Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología**

**Diciembre 2021**

## **AGRADECIMIENTOS**

A los doctores involucrados en impartir enseñanza en este departamento, en especial al director y codirector de la tesis por el tiempo dedicado y los conocimientos brindados.

A mi familia sobre todo a los pilares de mi vida por apoyarme incondicionalmente en cada paso y acompañarme en este proceso.

A mis amigos por iluminar mi camino con su cariño y comprensión.

A los residentes por su ayuda, paciencia y compañía.

A todo el personal por ilustrar gran parte de mi formación.

## Tabla de contenido

<b>AGRADECIMIENTOS</b>	4
<b>INTRODUCCIÓN</b>	7
<b>MARCO TEÓRICO</b>	9
QUIMIOCINA CXCL-17	10
RECEPTOR DE QUIMIOCINA CXCR4	12
ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL	15
COLITIS ULCERATIVA CRÓNICA INESPECÍFICA	16
HISTOPATOLOGÍA DE CUCI	18
<b>JUSTIFICACIÓN</b>	24
<b>HIPÓTESIS</b>	25
HIPÓTESIS NULA	25
HIPÓTESIS ALTERNA	25
<b>OBJETIVOS</b>	26
OBJETIVO GENERAL	26
OBJETIVO SECUNDARIO	26
<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	27
DISEÑO METODOLÓGICO DEL ESTUDIO:	27
TIPO DE ESTUDIO:	27
POBLACIÓN DE ESTUDIO	27
A.- Criterios de inclusión:	27
B.- Criterios de exclusión:	27
C.- Criterios de eliminación:	28
D.- Lugar de referencia y método de reclutamiento:	28
DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA DEL ESTUDIO	29
CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA	31
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	32
<b>RESULTADOS</b>	33
DATOS GENERALES	33
EXPRESIONES DE CXCR4	40
EXPRESIONES DE CXCL17	46
<b>DISCUSIÓN</b>	55
<b>CONCLUSIONES</b>	57
<b>Bibliografía</b>	58

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad CUCI se debe a una respuesta inmune anormal aunado a la alteración en la función y arquitectura de la barrera epitelial. Esta última funge un papel fundamental en el inicio de la patogénesis ya que existe un incremento en la apoptosis y una disminución en los complejos de unión, lo que condiciona mayor permeabilidad intestinal contribuyendo a la exposición de antígenos bacterianos que desencadena una respuesta inflamatoria intensa. Además, se ha descrito que la reducción de MUC 1, MUC 4, MUC 5 que regulan la secreción de mucina en células caliciformes se asocian a defecto de la barrera epitelial.(1,2)

Otro factor contribuyente en la patogénesis de CUCI es la disbiosis, es decir un desbalance del equilibrio microbiano del microbiota normal, está es favorecida por el genotipo del paciente, antecedente de infecciones, la dieta y el uso previo de antibióticos ; se ha documentado un incremento de microorganismos como *Bacteroidetes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Enterobacteriaceae*, *Ruminococcus* *pasteurellaceae*, *Vellonellaceae* and *Fusobacteriaceae*, *Clostridiales* y el decremento en *Firmicutes*, *Erysipelotrichales*, *Faecalibacterium* and *Roseburia*. Otra de las bacterias que se ha reportado con mayor prevalencia es *E. coli* invasiva no adherente. (2)

La alteración en la permeabilidad favorece la traslocación de antígenos bacterianos a la lámina propia comenzando la respuesta inflamatoria, dentro de la cual participan los patrones moleculares asociados a microbios (MAMPs por sus siglas en ingles) y los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs), estos son reconocidos por receptores tipo-Toll para activar respuesta inflamatoria anti-microbiana, que



como es bien sabido esta aumentada en los pacientes con CUCI. La sobre expresión de la inflamación y otros mediadores conduce al desarrollo de úlceras y tejido de granulación para liberar más metaloproteinasas que degradan la matriz, miofibroblastos, células plasmáticas que contribuyen aún más al daño en el epitelio.

(2)

Las células T juegan importante rol en la patogénesis de CUCI debido a que se demostró la neutralización de estas a través de canales de activación de canales de calcio. Además, la eficacia de los anticuerpos TNF- $\alpha$  monoclonal infliximab, adalimumab y golimumab da soporte al rol patogénico crucial.

Para iniciar, amplificar y mantener la inflamación crónica intestinal son necesarias las moléculas de señalización que está orquestado por quimiocinas y sus receptor e integrinas favoreciendo la migración e infiltración de los leucocitos.

## MARCO TEÓRICO

Las quimiocinas son una familia de proteínas pequeñas que actúan principalmente como quimiotácticas de leucocitos, para su migración y regulación de inflamación.

Se dividen en 4 grandes grupos (CXC, C-C, C, CX3C) de acuerdo con la disposición de los residuos de cisteína en las proteínas. El grupo C-X-C tiene un aminoácido separado con residuo de los primeros dos de 4 aminoácidos conservados; es secretado por macrófagos activados, células endoteliales y otros tipos celulares; su función es la activación y quimiotaxia de los neutrófilos. Además, de ser uno de los grupos inductores más importantes ante antígenos microbianos junto con otras citoquinas como IL-1 y TNF. (3)

Cuando las quimiocinas se secretan y se encuentran en concentraciones elevadas, estas se fijan a proteoglucanos de las células y de la matriz extracelular, para desempeñar su función, es decir la activación, migración, quimiotaxis de los neutrófilos, regulación de la inflamación. Otra de las funciones que pueden ejercer es mantenimiento de la arquitectura tisular y homeostasis, así como organizar tipos celulares como linfocitos T y B. (4)

Existen 17 ligandos de la familia de quimiocinas CXC en los humanos, siendo una de las dos más grandes familias. Estos 17 ligandos se dividen en dos grupos basados en la presencia o ausencia de tripéptido Glu-Leu-Arg (ERL) en el NH<sub>2</sub> terminal que precede al primer amino cisteína de la estructura primaria de las citocinas. Las quimiocinas que tienen el tripéptido (ERL+) son potentes

quimioatrayentes para los neutrófilos mientras los ERL- son quimioatrayentes para células mononucleares (5). La familia CXC es la única que tiene quimiocinas con la estructura funcional para la angiogénesis, la presencia de ERL+ les da la facultad de ser promotores de la angiogénesis en contraste con la ausencia ERL- les confiere ser inhibidores de la angiogénesis. Estas propiedades angiogénicas han sido asociadas a la patogénesis de los tumores, de igual manera determinado por el tripéptido ERL. (6).

Las quimiocinas median sus actividades uniéndose a receptores acoplados a la proteína G de siete membranas en diferentes células con el objetivo de iniciar cascadas de señalización intracelular. Los receptores también se agrupan en 4 subfamilias (llamados CXCR para la quimiocina C-X-C) según las especificidades de ligando. Cada receptor tiene la capacidad de unirse a diferentes quimiocinas de la misma familia, así como a ligandos no-quimiocinas involucrados en el proceso inflamatorio. (3)

## QUIMIOCINA CXCL-17

CXCL17 es una proteína de 119 aminoácidos con 22 aminoácidos como péptidos de señal, su codificación genética está localizada en el cromosoma 19q13.2 (7). CXCL17 fue identificada originalmente en el 2006 y tiene una estructura similar a la familia CXC de las quimiocinas (8), fue la última quimiocina reportada, por lo que existe poca información al respecto en la literatura (9). Es clasificada como una “quimiocina dual”, debido a que es una quimiocina con expresión homeostática en

el sistema gastrointestinal superior pero en otros tejidos como en sistema gastrointestinal inferior se expresa bajo condiciones inflamatorias (7)

Se ha documentado que tiene alta expresión en células epiteliales y células endoteliales vasculares (10). Se expresa principalmente en mucosas como tráquea, pulmón, lengua, esófago, estómago, colón, vagina además de glándulas salivares y próstata(8,9). CXCL17 actúa como quimioatrayente de monocitos, macrófagos y células dendríticas maduras e inmaduras(11,12) mientras otro estudio demostró que CXCL17 recluta neutrófilos hacia sitios tumorales como carcinoma hepático (12). Otras de las características de esta quimiocina es su actividad antimicrobiana potencial cuando la membrana de las bacterias se ve alterada (9) e inducir la expresión de factores pro-angiogénicos (8).

Existen estudios que indican que la actividad angiogénica CXCL17 podría jugar un rol importante promoviendo el crecimiento de varios tipos de células tumorales sólidas. Esto debido que se documentó la sobre-expresión de CXCL17 y en las células tumorales de cáncer de colón tanto en el tumor como en los ganglios linfáticos, señalando que es un factor de mal pronóstico (13,14). El cáncer de mama es otro de los tumores en donde se ha aseverado que la expresión de CXCL17 es un biomarcador independiente de mal pronóstico (15). De igual manera fue sugerido como un indicador de mal pronóstico independiente debido a que su expresión se correlaciona con el infiltrado inmune desfavorable en el carcinoma hepático (16) Interesantemente contrario a lo previamente descrito CXCL17 participa en la reacción inmune, que evita la progresión del tumor en pacientes con cáncer de páncreas, es decir, un factor antitumor (17). Dentro de las enfermedades

inflamatorias en las que se ha descrito una mayor expresión de CXCL17 en el infiltrado inflamatorio podemos mencionar a la fibrosis pulmonar idiopática, psoriasis y asma.

Recientemente se detectó que el receptor de la quimiocina CXCL17 es GPR35 renombrado como CXCR8 (18), es un receptor acoplado a la proteína G con una amplia gama de procesos fisiológicos, sin embargo no se conocen las funciones exactas. El receptor GPR35/CXCR8 se expresa por macrófagos y principalmente se expresa en las mucosas como el tracto gastrointestinal y pulmón(19). Además es importante mencionar que estudios genéticos han relacionado GPR35/CXCR8 con CUCI y colangitis esclerosante primaria (20).

CXCL17 es un inhibidor de baja afinidad al ligando CXCR4- CXCL12 y actúa como agonista inverso de la señalización constitutiva e inducida por CXCL12 (21)

## RECEPTOR DE QUIMIOCINA CXCR4

CXCR4 consta de 352 aminoácidos y se expresa ubicuamente en tejidos embrionarios como en adultos, fue conocido originalmente como receptor de siete dominios de transmembrana derivado de leucocitos (LESTR por sus siglas en inglés) o Fusin. Su estructura tiene una extensión en el extremo extracelular de Helix VII, que es dos vueltas helicoidales más largas, lo que lo hace diferente a otros receptores de quimiocinas C-X-C (22)

CXCR4 se une al factor 1 derivado de células estromales (SDF-1) y ambos juegan un papel importante en áreas de inmunología y el desarrollo humano como la

embriogénesis, vascularización y hematopoyesis (23). Esta relevancia biológica ha sido demostrada en ratones genéticamente inactivados de CXCR4 y SDF-1, quienes mueren in útero con anomalías severas cardíacas, vasculares, sistema nervioso central y hematopoyético (24).

El receptor es expresado en la superficie celular de la mayoría de los leucocitos, que incluye linfocitos T, B, monocitos y débilmente en células NK; esta expresión permite que cuando las quimiocinas o el factor de migración de macrófagos, se expresen en la superficie de las células endoteliales o epiteliales, el receptor se active y permita la migración de los leucocitos hasta el sitio de inflamación o residencia (23,25)

CXCR4 también se expresa en diferentes tejidos no hematopoyéticos como pulmón, hígado, riñón, glándula suprarrenal, ovario, cerebro, pigmento retiniano y tracto gastrointestinal (26). En el colon e íleon terminal las células epiteliales expresan CXCR4 en la mucosa y las criptas, e interesantemente la tinción es más fuerte en las células en la base de la cripta, por lo que surge la hipótesis de que CXCR4 puede estar involucrado en la diferenciación de células epiteliales progenitoras hacia una forma más madura; además la tinción también se observa en los leucocitos de la lámina propia, células endoteliales (27).

CXCR4 es el receptor específico de la quimiocina CXCL12 y juntos están involucrados en la homeostasis e inflamación intestinal debido a que participan en la integridad de la barrera mucosa, así como en la regulación de la defensa innata del huésped. Las funciones que desarrollan son estimular la migración de las células epiteliales intestinales, participar en la maduración de la barrera intestinal, en la

respuesta angiogénica así como en la regeneración del epitelio cuando existe lesión epitelial (28).

Se ha documentado que existe una relación entre polimorfismos de CXCL12 /CXCR4 en diferentes poblaciones y la aparición, progresión y gravedad de la enfermedad Inflamatoria intestinal. Su activación puede ser la respuesta de defensa en la inflamación crónica persistente (29,30). La administración de un antagonista de CXCR4 mejora la inflamación del colón y disminuye la producción de TNFa e IFNY y otras citocinas pro-inflamatorias (30)

Cao et al. Detectó que el nivel de expresión de CXCL12/ CXCR4 por PCR en el tejido de pacientes con colitis ulcerativa crónica inespecífica activa se incrementó significativamente en comparación con el grupo control (29).

Recientemente se ha sugerido que el receptor CXCR4 juega un papel en las células madre mesenquimales (CMM), quienes tienen una participación importante en la reparación, regeneración de tejidos además de tener propiedades inmunorreguladoras que podrían contribuir a reducir la inflamación (31,32).

CXCL12/ CXCR4 también tienen un rol importante en enfermedades autoinmunes como lupus eritematoso sistémico, espondilitis anquilosante, osteoartritis, uveítis, esclerosis múltiple exhibiendo una respuesta inflamatoria (29,33,34). Mientras es considerado como receptor homeostático, la expresión de CXCR4 puede ser moduladora en diferentes condiciones. Por mencionar algunos se sobre expresa en algunos tumores incluyendo mama, ovario, próstata, melanoma, neuroblastoma entre otros (26).

## ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

Las enfermedades inflamatorias del intestino incluyen la Colitis Ulcerativa Crónica Inespecífica (CUCI) y la Enfermedad de Crohn (EC), se caracterizan por ser entidades crónicas inflamatorias que afectan el colon y el intestino delgado. Su etiología aún no ha sido bien dilucidada, pero se sabe que resulta de la interacción de la respuesta inapropiada del sistema inmune de la mucosa con factores genéticos y ambientales. El diagnóstico de estas entidades es integral debido a que resulta de la conjunción entre los síntomas, signos clínicos, radiología, hallazgos endoscópicos y por último la confirmación del diagnóstico con la evaluación histológica (35).

La enfermedad de Crohn y colitis ulcerativa son enfermedades globales, que afectan a 2 millones de personas en el Norte de América, 3.2 millones en Europa y millones más alrededor del mundo. El incremento en la incidencia en países industrializados ha sido importante en las últimas décadas, sobre todo del 2005 al 2015; se estima que el rango de incidencia en Estados Unidos en este rango de tiempo es de 37.5 /100 000 personas adultas, 22.9/100 000 en adultos mayores y 12.8/ 100 000 en edad pediátrica (36,37).

Por otra parte, los estudios disponibles en México sugieren un incremento de hasta tres veces la tasa ajustada de incidencia de CUCI en los últimos 20 años. En un estudio publicado en 2009 por Yamaroto-Furusho en el que se analizó la epidemiología de 1987 a 2006 se encontró un incremento a partir de 1997 de 2.6



veces. De igual manera el número de hospitalizaciones del 2004 a 2008 subió de 2.3 a 4.1 /1000 ingresos en el hospital noroeste de México (38,39).

En el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” se observó lo siguiente en pacientes con CUCI en la población mexicana.

- En 6 años se realizó el diagnóstico por patología 128 pacientes: 18 en el 2014, 11 en el 2015, 14 en el 2016, 29 en el 2017, 25 el 2018, 31 en el 2019.
- 105 de los 128 pacientes fueron diagnosticados y tratados en el hospital universitario.

### COLITIS ULCERATIVA CRÓNICA INESPECÍFICA

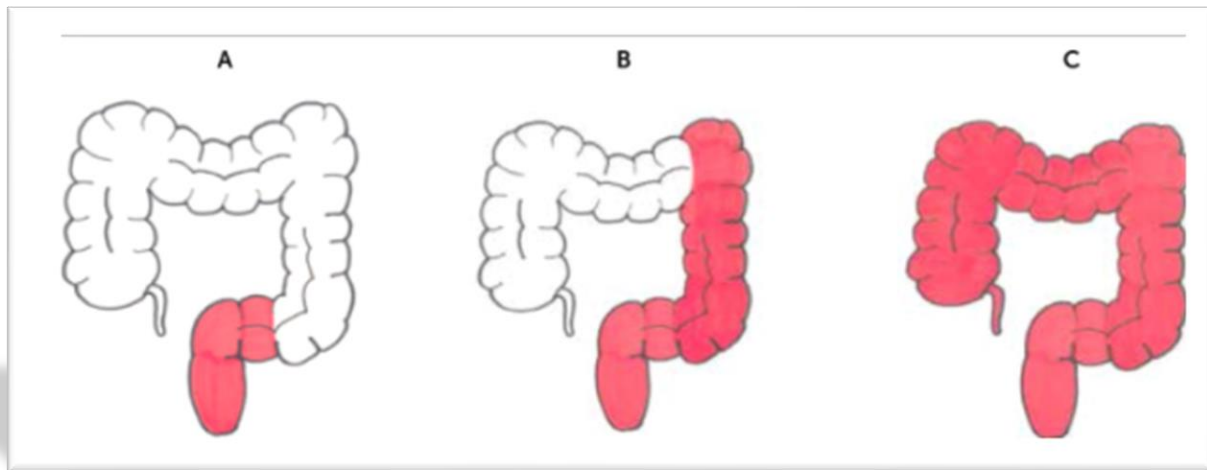
La colitis ulcerativa crónica inespecífica es una enfermedad crónica de la mucosa que se limita a la afección desde el recto en forma proximal hacia al colon, de manera difusa, continua, y superficial es decir solo tiende involucra la mucosa y submucosa en donde los neutrófilos son el infiltrado celular dominante en las áreas afectadas.

El curso de la enfermedad es reincidente e impredecible, se caracteriza por episodios de remisión y recaídas o exacerbaciones en donde los síntomas pueden persistir por días, semanas o meses. Estos síntomas se caracterizan diarrea sanguinolenta con material mucoso, sangrado rectal, dolor abdominal, pujo, tenesmo, pérdida de peso y síntomas generales asociados. En la exploración física el paciente puede presentar distensión abdominal, datos de irritación peritoneal,

acompañado de disminución en los ruidos intestinales. La sospecha clínica debe apoyarse con marcadores séricos de inflamación elevados y anemia.

Los hallazgos endoscópicos son múltiples dependiendo de la fase de la enfermedad en que se encuentre, existe granularidad, estenosis, pérdida del patrón austral, rigidez y pseudopolipos (40). Sin embargo, los datos más característicos que se presentan en la fase aguda son pérdida del patrón vascular, eritema, erosión, ulceración, friabilidad así como el sangrado espontáneo. Para evaluar de manera más objetiva la fase de la enfermedad, se han diseñado herramientas que ayudan a medir la actividad cuando se realiza la endoscópica. La escala más usada en grandes ensayos clínicos de CUCI es la escala subscore endoscópica de Mayo que evalúa la eficacia del tratamiento; Esta escala gradúa la inflamación rectal basada en 4 puntos: (0) normal, (1) eritema, pérdida del patrón vascular, friabilidad media, (2) marcado eritema, ausencia del patrón vascular, friabilidad y erosión, (3) ulceración, sangrado espontáneo. De tal manera que puedes clasificar la actividad y remisión endoscópica, definiéndose como curación de mucosa un puntaje de 0.(41).

Además, existe la clasificación clínica Montreal para CUCI la cual enfatiza la importancia de la extensión y severidad en el diagnóstico: E1 inflamación limitada al recto (proctitis, fig1A), E2 inflamación limitada a el ángulo esplénico (colitis izquierda fig1B) y E3 corresponde a pancolitis (fig1C)



*Figura 1: A) Montreal 1 B) Montreal 2 C) Montreal 3*

## HISTOPATOLOGÍA DE CUCI

Macroscópicamente la mucosa del colon puede estar hiperémica, granular con amplias zonas de ulceración que alternan con islas aisladas de mucosa en regeneración o mejor conservada lo que le confiere apariencia de pseudopólipos; estos tienen configuración nodular, pedunculada o filiforme. La mucosa del colon lesionada tiene transición abrupta con la mucosa normal. Cuando la enfermedad tiene tiempo de larga evolución puede existir atrofia con mucosa plana y lisa carente de pliegues normales. La inflamación severa y mediadores inflamatorios podrían dañar la muscular propia, así como la función neuromuscular y conducir a dilatación del colón y megacolon tóxico, lo que le confiere un riesgo significativo de perforación

(4)

Existen diferentes cambios histológicos en la enfermedad de CUCI que nos indican que existe un daño crónico a la mucosa, como:

- Plasmocitosis basal: significa que 3 o más células plasmáticas acumuladas en la lámina propia, entre la base de la cripta y la muscular de la mucosa. Es sensato que al observar un infiltrado de células plasmáticas denso en la lámina propia se busque intencionadamente otro dato histológico de cronicidad sobre todo si este hallazgo se encuentra adyacente a una zona ulcerada, edema o hiperemia (42,43)
- Distorsión de la arquitectura de las criptas: resulta de la destrucción y reparación continua de las estructuras epiteliales, dando como resultado glándulas con variación en el tamaño, forma y orientación, glándulas bifurcadas, atrofia (perdida de las criptas) y acortamiento (es decir presencia de espacio entre el fondo de las criptas y el borde superior de la muscular de la mucosa) así como distribución irregular en la lámina propia. En niños el grado de distorsión es menor pero difuso.
- Metaplasia de las células de Paneth: es otro hallazgo que indica que existe daño crónico de la mucosa cuando se localiza en colon transversal y colon izquierdo en el adulto. Es importante destacar que las células de Paneth en el colon derecho en adultos y de la misma manera en colon descendente y recto en niños representa un hallazgo normal de la mucosa.
- Metaplasia de glándulas pilóricas.
- Eosinofilia puede acompañar a la plasmocitosis
- Hiperplasia de la muscular de la mucosa

- Fibrosis de la submucosa

Por otra parte, la actividad o inflamación activa se define por la presencia neutrófilos ya sea en la lámina propia, criptas (criptitis) o lumen de la cripta (abscesos de cripta), mientras que el infiltrado en el epitelio superficial conduce a erosión o ulceración de la mucosa (44) . El grado de inflamación activa nos podría indicar la severidad de la enfermedad, de tal manera que cuando el infiltrado inflamatorio se encuentra en la lámina propia o en la luz glandular sin dañar al epitelio y es menor al 50% podemos clasificarla como leve, cuando es mayor al 50% se clasifica como moderada. Mientras que la inflamación severa se caracteriza por un denso infiltrado de neutrófilos, erosiones francas, abscesos en las criptas con distorsión glandular difusa evidente (43).

Las zonas de ulceración se definen por ser mucosa erosionada con deposición de fibrina e infiltrado inflamatorio celular acompañado de tejido de granulación. Cuando el área de ulceración excede al 50% de la mucosa examinada podemos decir que se trata de colitis fulminante (42). Por el contrario, si existe una marcada distorsión arquitectural con ausencia de inflamación activa estamos hablando de colitis inactiva o quiescente.

Adyacente a las zonas de ulceración difusa existen áreas en forma de islas de mucosa relativamente intacta, no ulcerada, dándole la apariencia polipoide; macroscópicamente pueden ser nodulares, pedunculados o filiformes y en los cortes microscópicos están compuestos por epitelio relativamente normal y submucosa con aumento de células ganglionares y pequeños vasos sanguíneos (35).

Pese a que la severidad se puede ser estratificado por los patólogos según el grado de actividad que se observen en los cortes histológicos, esta tiene mucha variabilidad. El grado de actividad histológica no ha sido adoptado por investigadores y clínicos como un resultado de rutina para tratar a los pacientes, principalmente debido a la falta de un estándar de oro y a la incertidumbre con respecto al valor práctico. Mas bien los gastroenterólogos determinan la gravedad de la enfermedad en función a los hallazgos clínicos, endoscópicos y por pruebas de laboratorio. Sin embargo, se cree que la histología podría servir como terapia para determinar la respuesta a terapia o con factor de riesgo para desarrollar neoplasia. (35,44,45). Es por eso por lo que se han desarrollado múltiples sistemas de escala para cuantificar la microinflamación en las biopsias. Existen once índices de score que han sido parcialmente validados, Feagan 2005; Fiel 2003; Geboes 2000; Gomes 1986; Jauregui-Amezaga 2016; Marchal-Bressenot 2017; Mosli 2017; Riley 1991; Rubin 2007; Theede 2015; Truelove 1956. No obstante el índice de Nancy y el índice histopatológico de Robarts han sufrido la mayor validación en confiabilidad, validez de contenido, prueba de hipótesis y validez de criterio, han sido probadas las propiedades de funcionamiento, pero no han sido completamente validados (45).

El índice de Nancy está compuesto por tres criterios histológicos definiendo 5 grados de actividad: ausencia de hallazgos histológicos significativos (grado 0), infiltrado inflamatorio crónico sin infiltrado inflamatorio agudo (grado 1), enfermedad activa leve, es decir infiltrado neutrofílico < 50%, sin ulceración o erosión (grado 2), enfermedad activa moderada, infiltrado neutrofílico >50%, ulceración o erosión

(grado 3), enfermedad activa severa, erosión o ulceración independientemente de otras características (grado 4) (figura1) (46).

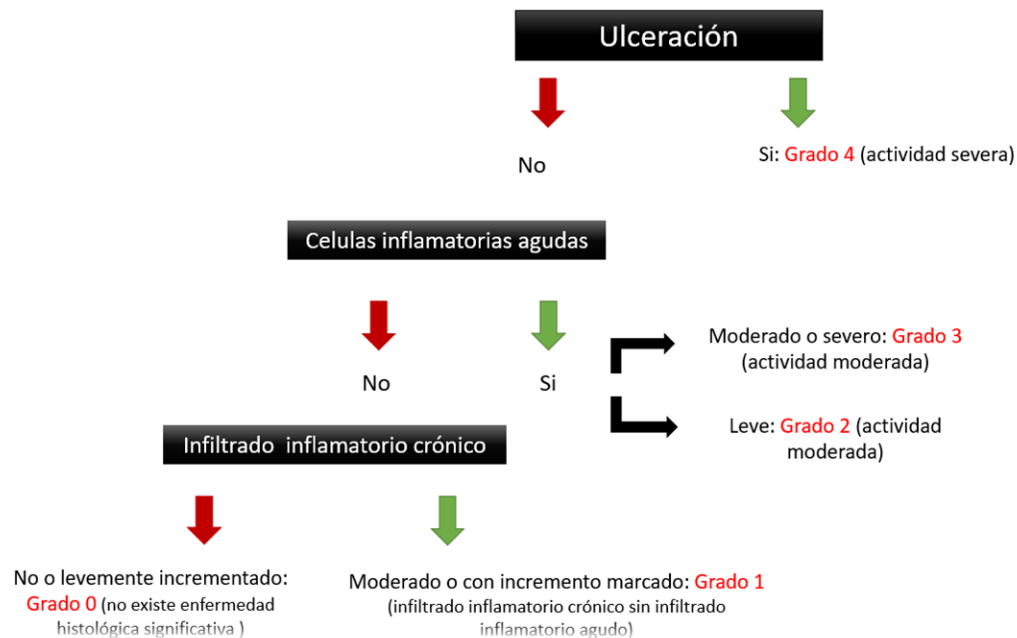


Figura 1: Algoritmo del índice histológico de Nancy compuesto por tres procesos, dando como resultado la clasificación de la actividad histológica de CUCI en cinco grados.

Existen otros datos histológicos que podrían presentarse con menor frecuencia como granulomas también llamados granulomas mucosos, que resultan de la ruptura o lisis de las criptas con respuesta inflamatoria de tipo cuerpo extraño, aunque pueden o no presentar células gigantes, tienden a ser más superficiales con una distribución al azar en la mucosa (42,44)

La inflamación y ulceración del íleon es un fenómeno en CUCI bien establecido, conocido como ileitis de retrolavado, que resulta del reflujo retrogrado del contenido fecal que pasa por la válvula ileoceal produciendo inflamación y daño a la mucosa;

las características histológicas de esta lesión se presentan en algunos centímetros del íleon terminal en aproximadamente 17% de los pacientes e incluyen criptitis, abscesos en criptas, erosiones y ulceración, así como cambios crónicos como atrofia, regeneración de las criptas y metaplasia pilórica en glándulas. Se presenta con mayor frecuencia en pancolitis, sin embargo, estos cambios han sido documentados con grado de actividad leve a moderada (42,44).



## **JUSTIFICACIÓN**

El estudio proporcionará evidencia sobre la participación de CXCL17 y CXCR4 en la enfermedad de CUCI, amplificando el conocimiento de las quimiocinas que es objetivo prometedor en la terapia inmunorreguladora.

Considerando que CXCL17 fue la última quimiocina en describir y que existen pocos artículos describiendo su biología en la literatura internacional, se estima que el resultado, cualquiera que éste sea, tenga una rápida difusión y un impacto en el avance del conocimiento de esta enfermedad.

## **HIPÓTESIS**

Existe expresión de la quimiocina CXCL17 y el receptor CXCR4 en las biopsias de los pacientes con Colitis Ulcerativa Crónica Inespecífica.

### **HIPÓTESIS NULA**

No existe expresión de la quimiocina CXCL17 y el receptor CXCR4 en las biopsias de los pacientes con Colitis Ulcerativa Crónica Inespecífica.

### **HIPÓTESIS ALTERNA**

La expresión de la quimiocina CXCL17 y el receptor CXCR4 en las biopsias analizadas de los pacientes con CUCI es directamente proporcional a el grado de actividad inflamatoria.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Analizar si existe expresión de la quimiocina CXCL17 y el receptor CXCR4 en pacientes con CUCI.

### **OBJETIVO SECUNDARIO**

Analizar si la expresión de los marcadores tiene relación con el grado histológico de actividad inflamatoria.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **DISEÑO METODOLÓGICO DEL ESTUDIO:**

Es un estudio observacional, ambiaspectivo, comparativo, descriptivo

### **TIPO DE ESTUDIO:**

Cohorte transversal.

### **POBLACIÓN DE ESTUDIO**

#### **A.- Criterios de inclusión:**

- Pacientes femeninos o masculinos mayores de 18 años del Hospital Universitario que cuenten con el el bloque de parafina.
- Diagnóstico de CUCI por parte del servicio de anatomía patológica del HU.
- Diagnóstico de CUCI por parte del servicio de gastroenterología del HU.

#### **B.- Criterios de exclusión:**

Biopsias enviadas de otras instituciones de salud al servicio de Anatomía patológica en quienes no se confirme la enfermedad por clínica y endoscopia.

#### C.- Criterios de eliminación:

- Pacientes sin criterios clínicos y endoscópicos para la enfermedad inflamatoria intestinal.
- Pacientes que no cuenten con bloques de parafina en los archivos de anatomía patológica.
- Pacientes que tengan bloque de parafina con el tejido mal preservado.
- Pacientes que tengan tejido insuficiente para realizar estudio de inmunohistoquímica.

#### D.- Lugar de referencia y método de reclutamiento:

Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”.

Se incluirán sujetos que tengan criterios clínicos, endoscópicos e histopatológicos de CUCI durante los últimos 6 años.

En cuanto a los mecanismos de confidencialidad llevados a cabo para proteger la identidad de los pacientes, el servicio de Anatomía Patológica utiliza un sistema de enumeración interna, el cual nos permite guiarnos para llevar a cabo la investigación sin tener que utilizar la información personal del paciente, por lo que ningún dato personal como nombre, dirección o teléfono estarán en la base de datos y/o publicación que derive.

## DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA DEL ESTUDIO

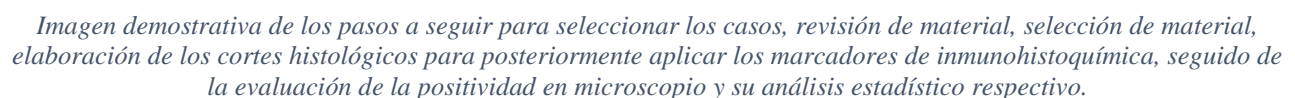
1.- Se realizó una búsqueda en la base de datos Pathox (TESI INFORMATICA) del 2014 al 2019 de donde se recabaron los casos de los pacientes que cumplían criterios de inclusión. Posteriormente se obtuvo de archivo las laminillas y los bloques de parafina para poder aplicar los criterios de exclusión y eliminación descritos previamente.

2.- Se revisarán todos los cortes histológicos realizados en cada “mapeo”, es decir, de todas las biopsias realizadas en cada endoscopia. De tal forma se reclasificará cada una en base a los hallazgos histológicos significativos según el índice de Nancy en grado 0,1,2,3,4 en el tiempo de la colonoscopia. Una vez clasificado el grado de actividad de cada biopsia se elegirá el bloque de parafina que sea más representativo (según los datos histológicos observados) y que contenga más cantidad de tejido.

3.- Se realizarán arrays a cada uno de los bloques de parafina elegidos, calentándolo aproximadamente a 40°C para posteriormente elegir la biopsia más representativa, disecarla y colocarla en una lámina plana de parafina junto con otras 11 biopsias elegidas de otros pacientes. Una vez acomodadas las biopsias manualmente se vierte la parafina, se enfría para realizar el bloque.

4.- A cada bloque de parafina, se le realizará un corte de 0.4 mm para realizarle las tinciones de inmunohistoquímica utilizando un sistema de detección Ultraview DAB en parafina (ventana). Para esto es necesario optimizar la dilución del anticuerpo CXCL17 a 1:50 en con acondicionador celular CC2 estándar durante 38 min;

5.- Una vez realizados los marcadores, se evaluará la expresión de cada anticuerpo de cada tejido contenido en el bloque de parafina en un microscopio convencional. Definiremos la positividad de los marcadores de inmunohistoquímica CXCL17 Y CXCR4 como cualquier célula que los exprese de manera nuclear y citoplasmática. De la misma manera la definiremos la negatividad (no inmunoreactivo) cuando se encuentra la ausencia de expresión de los marcadores, sin embargo, si el control también es negativo, se debe considerar indeterminado y el estudio deberá repetirse. La positividad de los dos anticuerpos será valorada por un patólogo experto, quien graduará la intensidad de esta en leve (1), moderada (2) y fuerte (3) en una escala visual; así como los sitios anatómicos de la mucosa que los expresen.



## CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

TAMAÑO DE MUESTRA PARA POBLACIÓN FINITA					
$n = \frac{N * Z_{\alpha}^2 * p * q}{d^2 * (N - 1) + Z_{\alpha}^2 * p * q}$					
		al cuadrado	P x Q	N - 1	
valor N	82			81	
valor Z	1.96	3.8416			
valor P	0.2			n=	80.9334507
valor Q	0.8		0.16		
valor d	0.01	0.0001			

Se utilizó la fórmula de estimación de proporción en una población finita con el objetivo principal de evaluar la prevalencia de expresión de los marcadores de inmunohistoquímica CXCL17 Y CXCR4 en pacientes del Departamento de Anatomía Patológica en el Hospital Universitario con diagnóstico de Colitis Ulcerativa Crónica Inespecífica. Dichos pacientes deberán contar con los criterios de inclusión y no presentar criterios de exclusión, esperando así una población total de 82 pacientes en base a la TESI informática PATHOX. Confiando en que obtendremos una proporción del 20% de prevalencia de expresión, con un valor de Z de 1.96 y un valor  $\delta$  de 0.01 dando 81 sujetos de estudio como máximo. Estos parámetros fueron establecidos por el especialista Anatómo Patólogo con “fellow” en gastroenterología.



## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En la estadística descriptiva se reportarán frecuencias y porcentajes para variables cuantitativas y cualitativas. Respecto a las variables cuantitativas se reportarán medidas de tendencia central y dispersión (media/mediana; desviación estándar/rango intercuartílico).

Se utilizará la prueba de Chi-cuadrada de Pearson para evaluar variables categóricas. Asimismo, se evaluará la distribución de la muestra por medio de la prueba de Kolmogorov-Smirnov y la correlación con la prueba de Pearson y/o Spearman y curva ROC.

Es importante mencionar que se tomarán en cuenta como valor estadísticamente significativo los valores de  $p < 0.05$ .

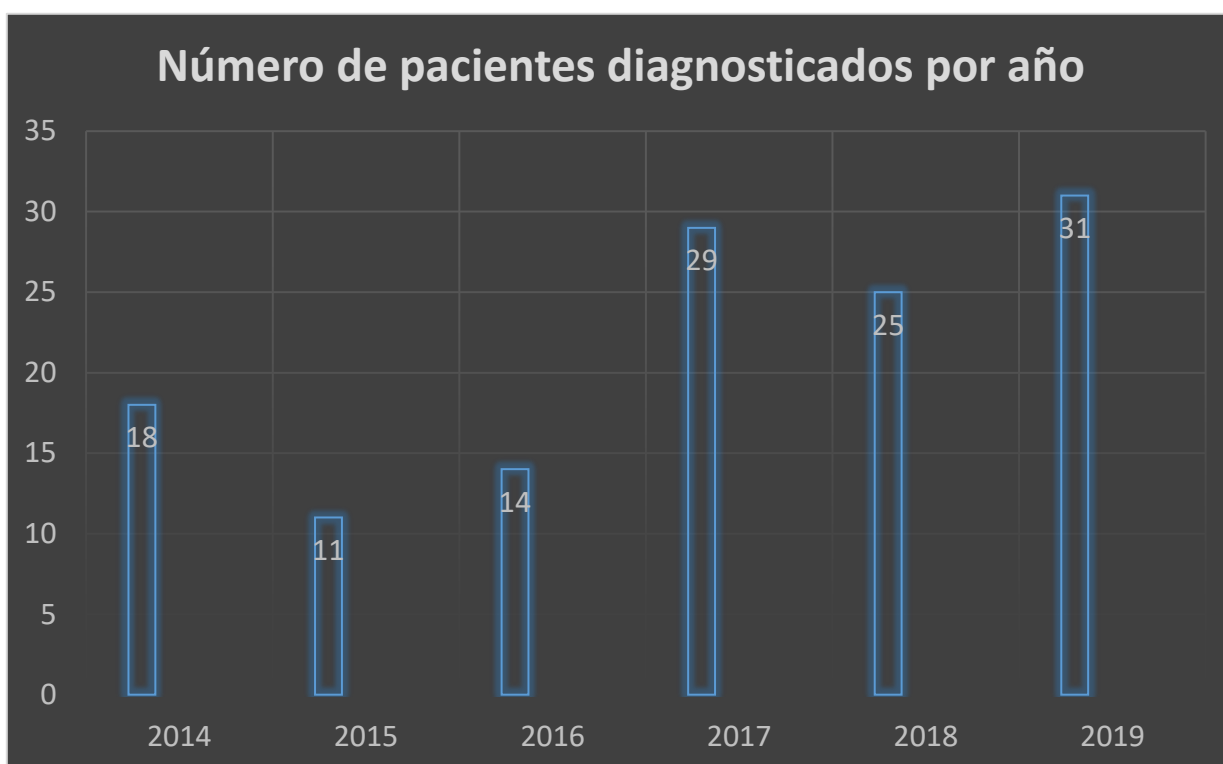
Para dicho análisis estadístico se utilizará el paquete estadístico SPSSv24 IBM Corp. Released 2017, IBM SPSS Statistics for Windows, Version 24.0. Armonk, NY: IBM Corp así como Excel 2011 para generar la base de datos.

## RESULTADOS

### DATOS GENERALES

En el Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” se observó lo siguiente en pacientes con CUCI en la población mexicana.

- En 6 años se realizó el diagnóstico por patología 128 pacientes: 18 en el 2014, 11 en el 2015, 14 en el 2016, 29 en el 2017, 25 el 2018, 31 en el 2019.
- 105 de los 128 pacientes fueron diagnosticados y tratados en el hospital universitario.

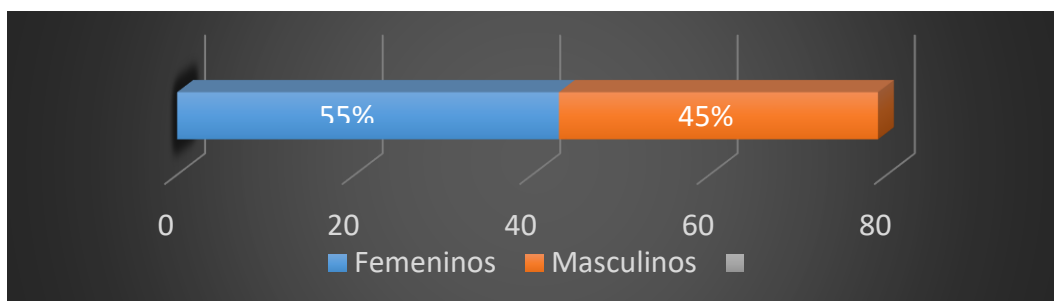


82 pacientes confirmados y tratados como CUCI por el departamento de gastroenterología.

La cantidad de pacientes eliminados fue de 4 debido a que no contaban con el bloque de parafina ni laminillas en el archivo de anatomía patológica.

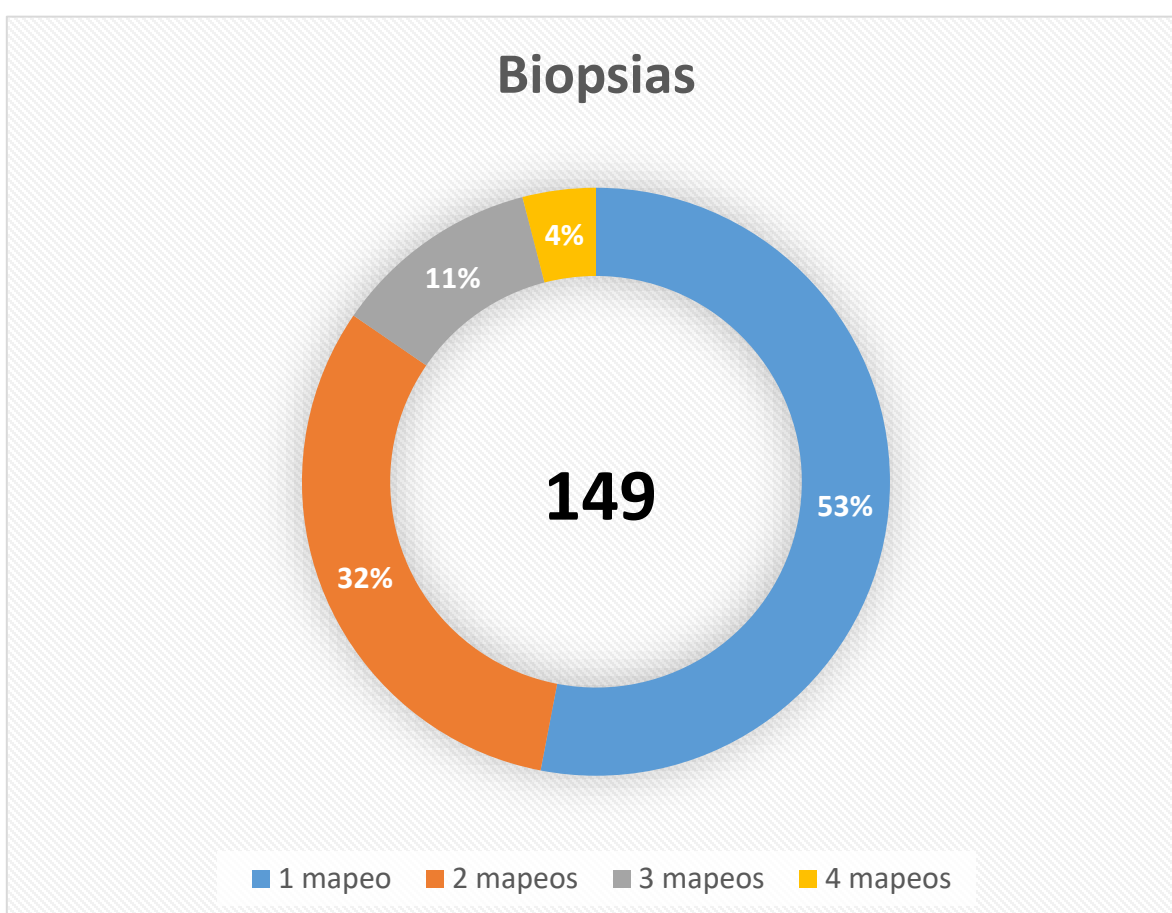
El grupo de estudio fue de 79 pacientes, de los cuales:

- 34 fueron referidos de la consulta como diagnóstico presuntivo.
- 45 fueron referidos de la consulta diagnóstico y tratamiento establecido
- 
- El rango de edad fue de 17 a 78 años, con una media de 40 años.
- La distribución por sexo resultó con 43 pacientes femeninas, es decir, 55% y 36 pacientes masculinos, ósea el 45%.



*Grafica de distribución por sexo.*

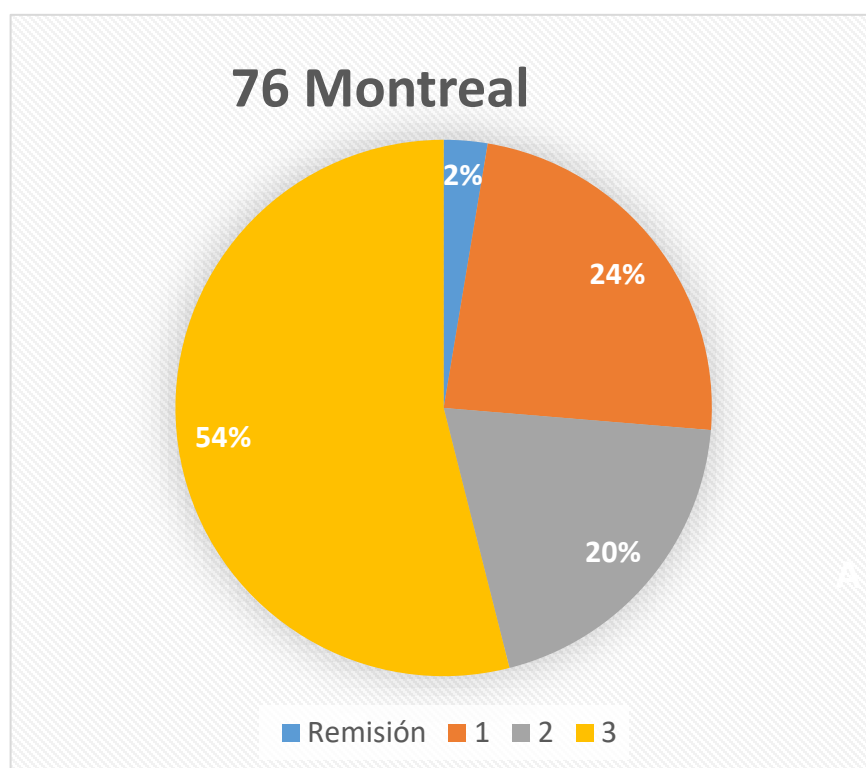
De la cantidad de pacientes elegidos, 79 (53%) contaban con una primera endoscopia en la que realizaron la toma de biopsias (mapeo), 47 pacientes (32%) tuvieron seguimiento, 17 pacientes se les realizó una tercera endoscopia (11%) y solo 6 pacientes (4%) tuvieron un control con 4 mapeos. Lo que nos da como resultado 149 mapeos de los que elegimos una biopsia más representativa, es decir, con el nivel más alto de inflamación activa o más cercano a Nancy 4.



*Gráfica de número de endoscopias y toma de biopsias que tuvo cada paciente*

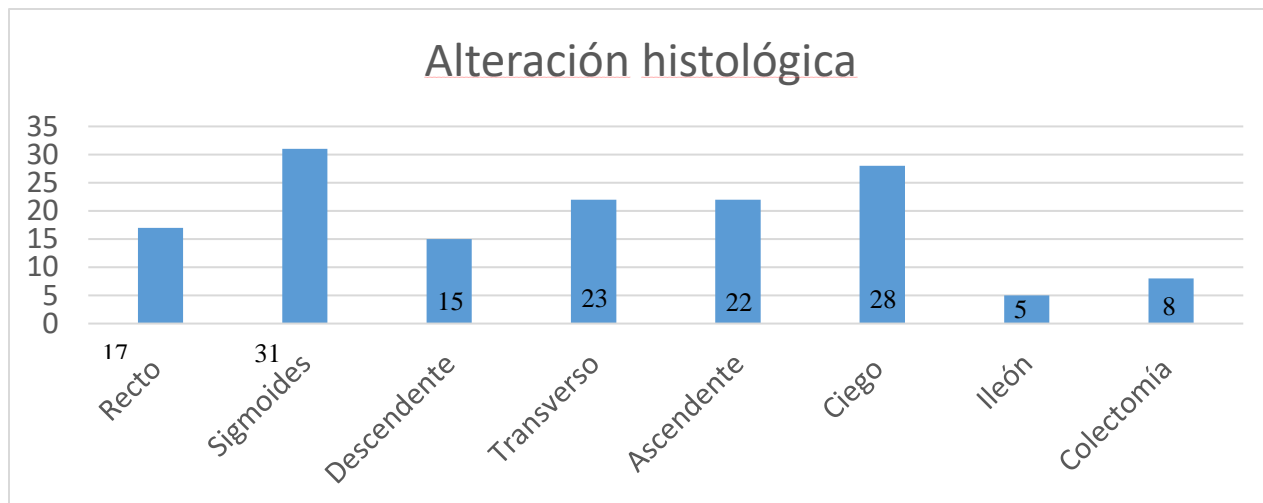
## CORRELACIÓN CON LA CLÍNICA

Se revisaron los expedientes de cada paciente para examinar el reporte de las endoscopías realizadas. De estos, solo fue posible recabar 77 clasificaciones de Montreal, que divide la enfermedad en 3 grupos según la afectación del segmento del colon; en las cuales 24% resultaron proctitis, 20% colitis izquierda y 54% con pancolitis.



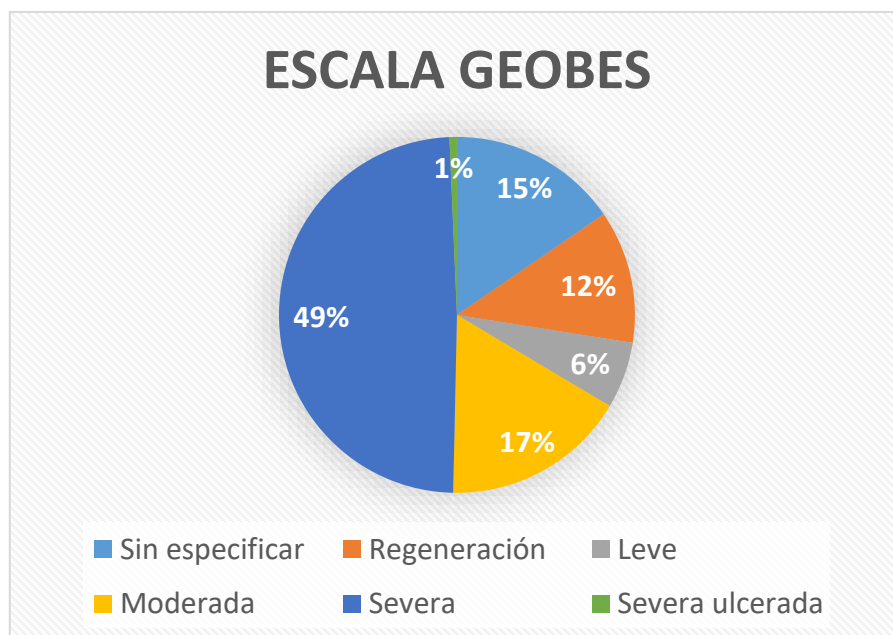
Así mismo se reevaluaron todas las biopsias realizadas en cada endoscopia y se registró el segmento de colon más distal en el que se observaban alteraciones histológicas consistentes con la enfermedad.

De los 149 mapeos realizados, el 57.7% presentó pancolitis, 32 % proctitis y 10% colitis izquierda.

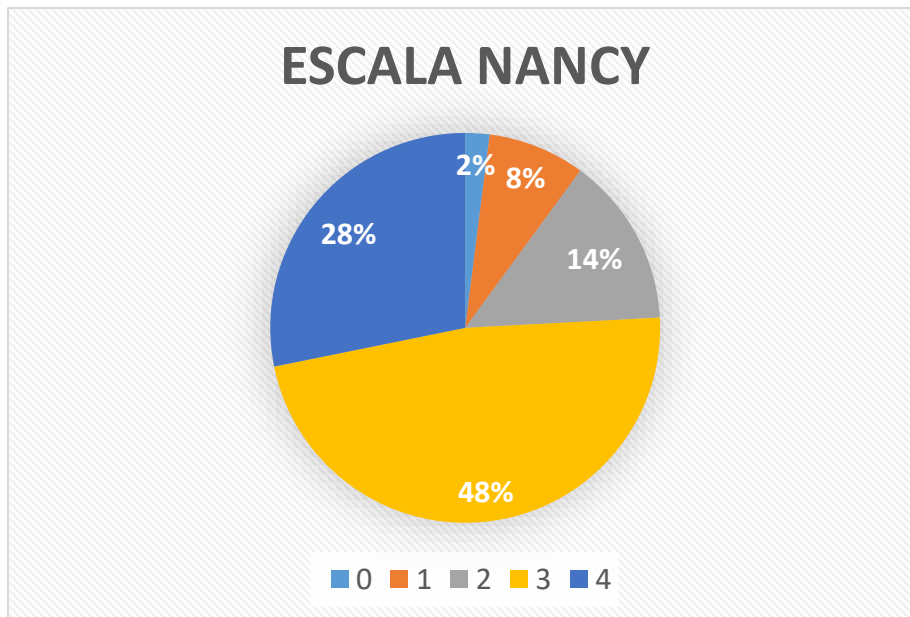


*Gráfica del segmento de colon mas distal con alteración histológica.*

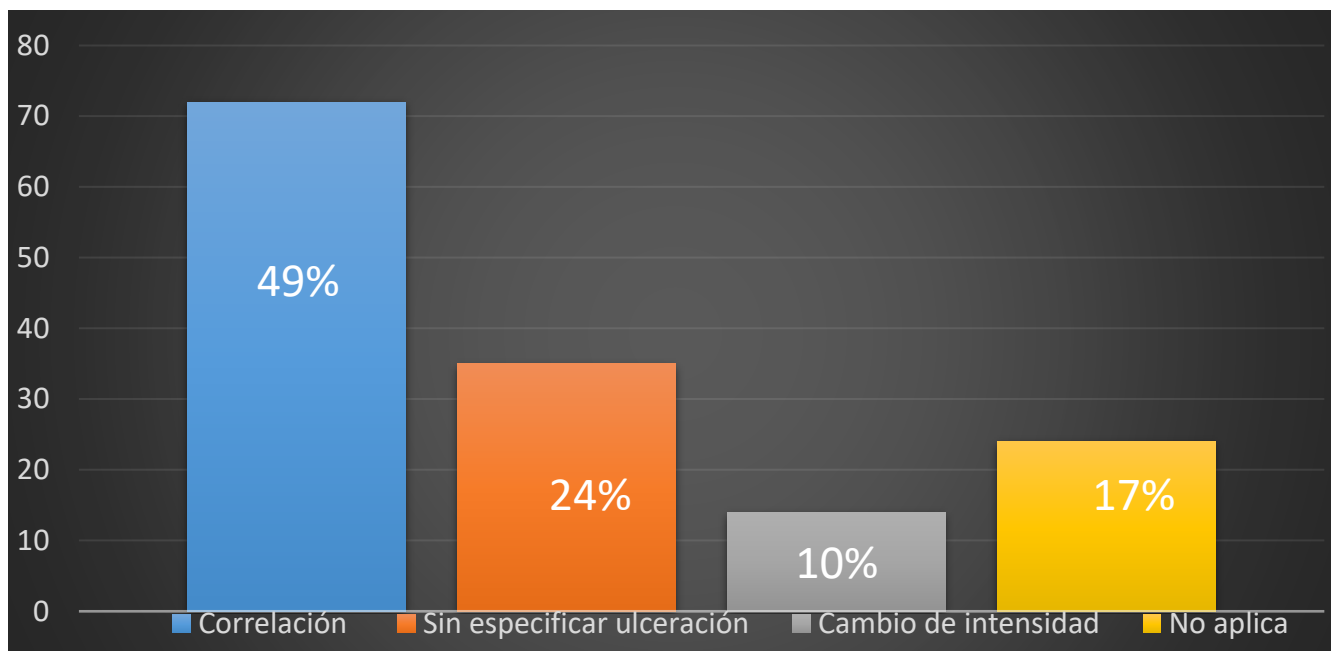
De la misma manera se registró la fase de actividad histológica con la que habían sido reportadas las biopsias de CUCI en el momento del diagnóstico con la escala de Geobes. de los cuales la fase de actividad severa fue la más frecuente 49% (73 biopsias) seguidos en orden decreciente por fase activa moderada 17% (25 biopsias), en regeneración 12% (18 biopsias) y 6% en fase activa leve (9 biopsias); solo en una biopsia se hizo el hincapié en que estaba ulcerada; desafortunadamente en el 15% de las biopsias no fue posible determinar la fase de actividad previa.



Posteriormente cada biopsia fue reclasificada con la escala de Nancy obteniendo el 48% fase activa de moderada a severa (Nancy 3), 28% fase activa severa ulcerada (Nancy 4), 14% en fase activa leve (Nancy 1), 8% en fase 0 en donde predomina la inflamación crónica y cambios histológicos de la enfermedad y solo 2% sin evidencia de enfermedad histológica significativa.



Con los resultados obtenidos de cada escala decidimos comparar el resultado de ambas para comprobar si el estadio de la enfermedad cambiaba importantemente con cada una. Observamos que 72 de las biopsias (49%) coincidieron exactamente en la fase de actividad, 35 (24%) estaban descritas con una actividad severa pero no se especificaba la ulceración observada en ellas. Solo en 14 biopsias hubo discordancia entre el grado de actividad observado y en el resto (24 biopsias) no fue posible compararlas.



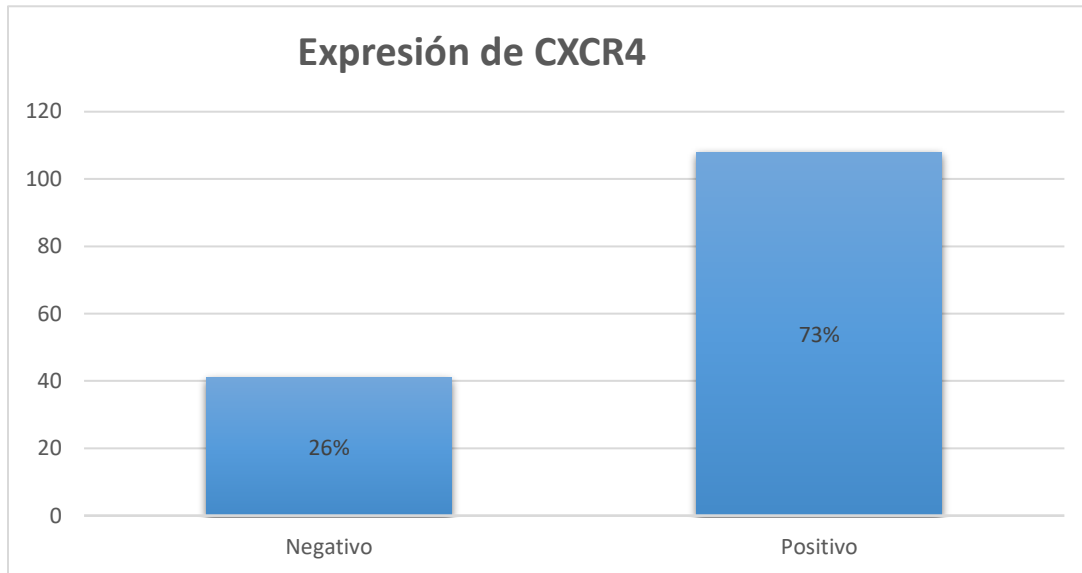
*Gráfica de la comparación entre las dos escalas utilizadas.*



## EXPRESIONES DE CXCR4

Se evaluó la inmunorreactividad en patrón nuclear y citoplasmático.

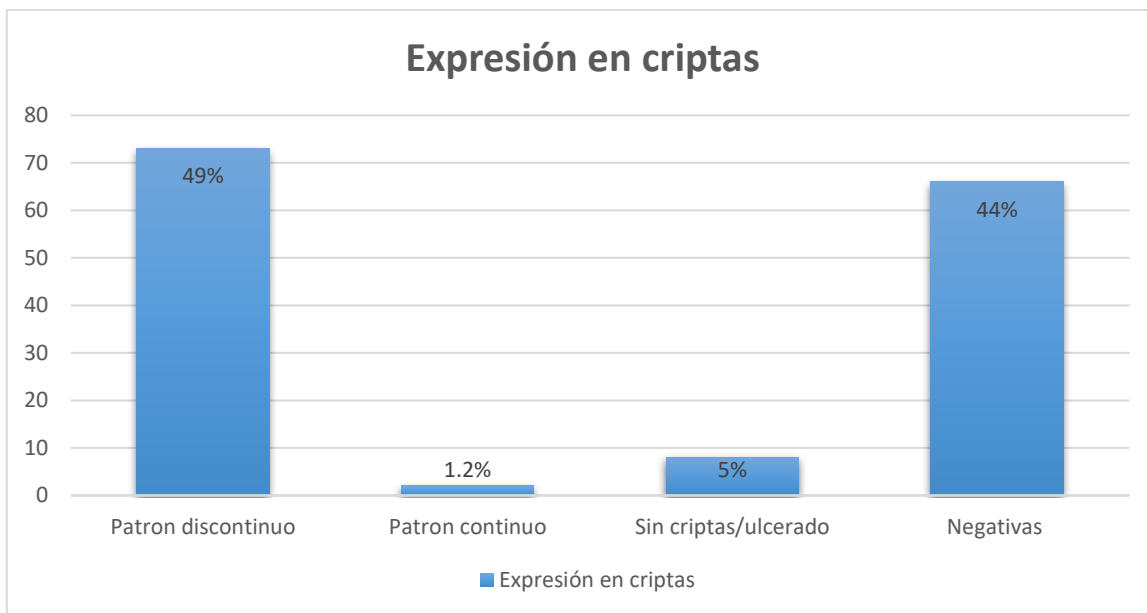
Se observó que 108 biopsias expresaron CXCR4 ya sea en criptas o en las células inmunes de la lámina propia, mientras 41 biopsias resultaron totalmente negativas.



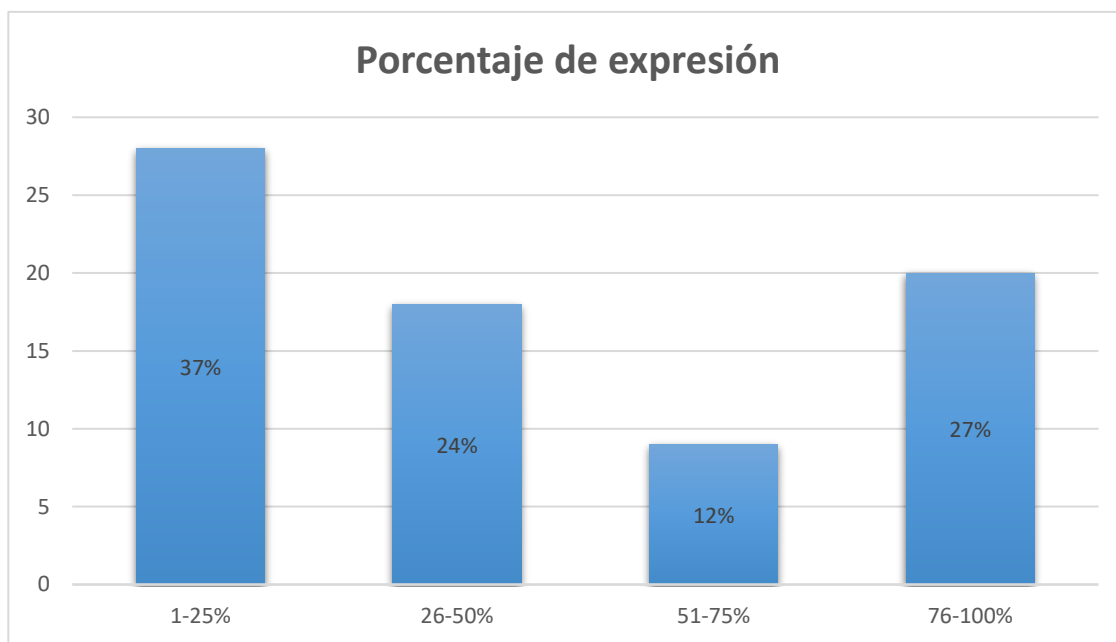
*Gráfica de expresión de CXCR4 en cualquier sitio de la biopsia.*

La positividad evaluada de CXCR4 en criptas resultó de la siguiente manera:

- 73 biopsias (49%) tuvo expresión en patrón discontinuo.
- Solo 2 biopsias (1.2%) se expresó en patrón continuo.
- 8 biopsias presentaban ulceración completa de la mucosa por lo tanto no fue posible evaluar la expresión en criptas.
- 66 biopsias (44.3%) no tuvieron expresión en criptas.

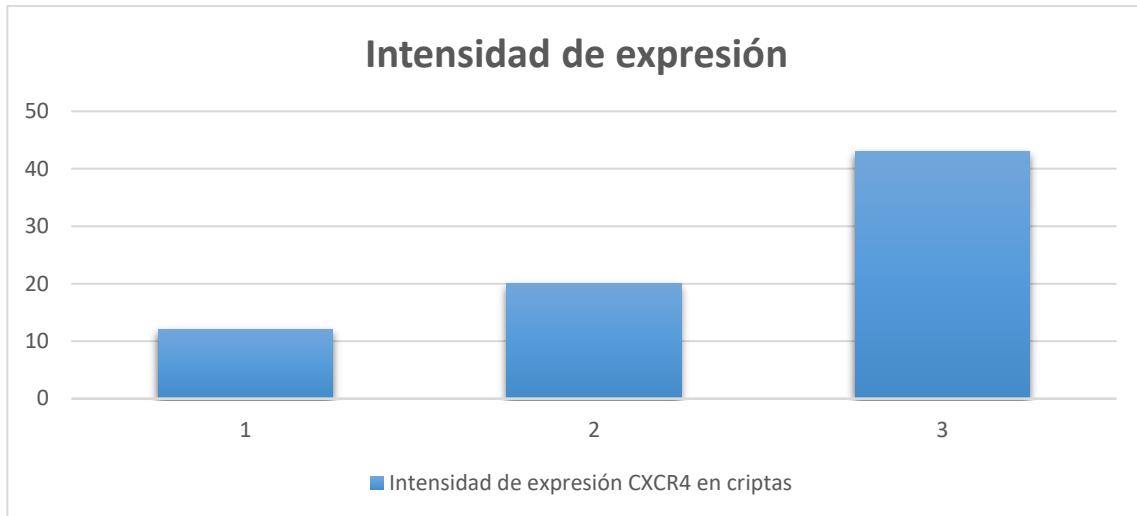


*Gráfica de expresión de CXC4 en criptas.*



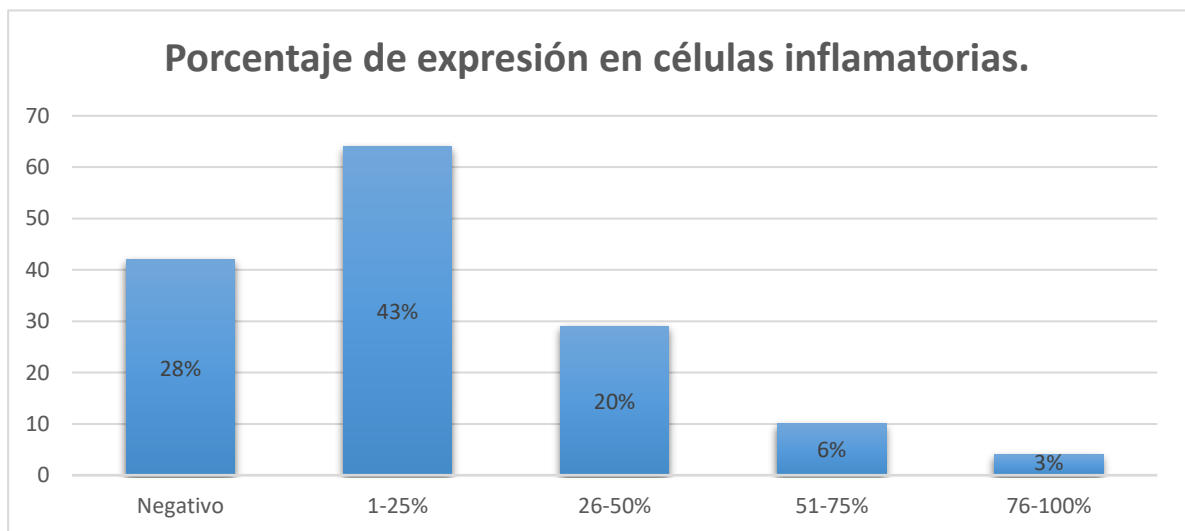
*Gráfica de porcentaje de expresión de CXC4 en criptas.*

La intensidad de expresión en criptas de las 75 biopsias tuvo la siguiente distribución:



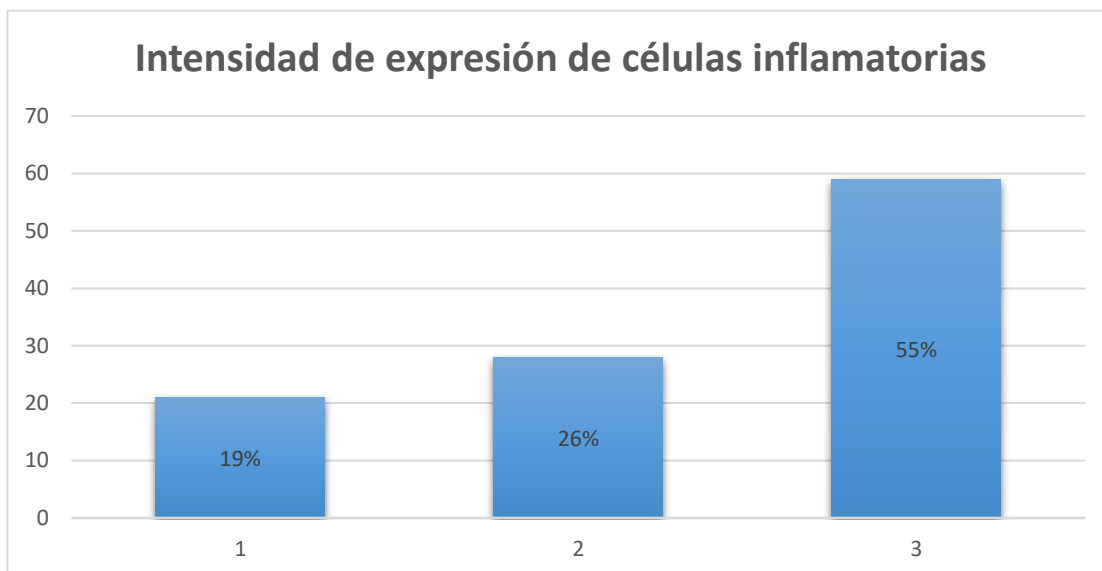
*Gráfica de intensidad de CXCR4 en criptas.*

La positividad evaluada de CXCR4 en células inflamatorias resultó de la siguiente manera:



*Gráfica de expresión de CXCR4 en células inflamatorias de lámina propia.*

La intensidad de expresión en células inflamatorias de las 107 biopsias positivas tuvo la siguiente distribución:



*Gráfica de intensidad de CXCR4 en células inflamatorias de la lámina propia.*

Al hacer correlación entre el patrón de expresión y la intensidad en criptas, se observó que la expresión de CXCR4 en patrón discontinuo tiende a ser en una intensidad 3.

Correlación de patrón de expresión de CXCR4 con intensidad							
Variables		Intensidad de CXCR4 (%)					Valor P
		0	1+	2+	3+	Total (n=149)	
Patrón de expresión	Patrón continuo	0	0	1 (0.7)	1 (0.7)	2 (1.3)	<0.001
	Patrón discontinuo	0	13 (8.7)	19 (12.8)	41 (27.5)	73 (49)	
	Sin criptas /ulcerado	0	4 (2.7)	0	4 (2.7)	8 (5.4)	
	Solo en células inflamatorias	0	10 (7)	12 (8.4)	3 (2.1)	25 (17.5)	
	Negativo	41 (27.5)	0	0	0	41 (27.5)	
Total		41 (27.5)	27 (18.9)	32 (22.4)	49 (34.3)	149	

Al hacer correlación entre la fase de actividad de Nancy y el porcentaje de expresión de CXCR4 en criptas se observa una mayor tendencia a la expresión en porcentaje bajo entre más activo ese la biopsia. Sin embargo, si llega a expresarse CXCR4 es mas probable que sea más intenso entre más actividad tenga la biopsia.

### Correlación de grupo NANCY con expresión de CXCR4

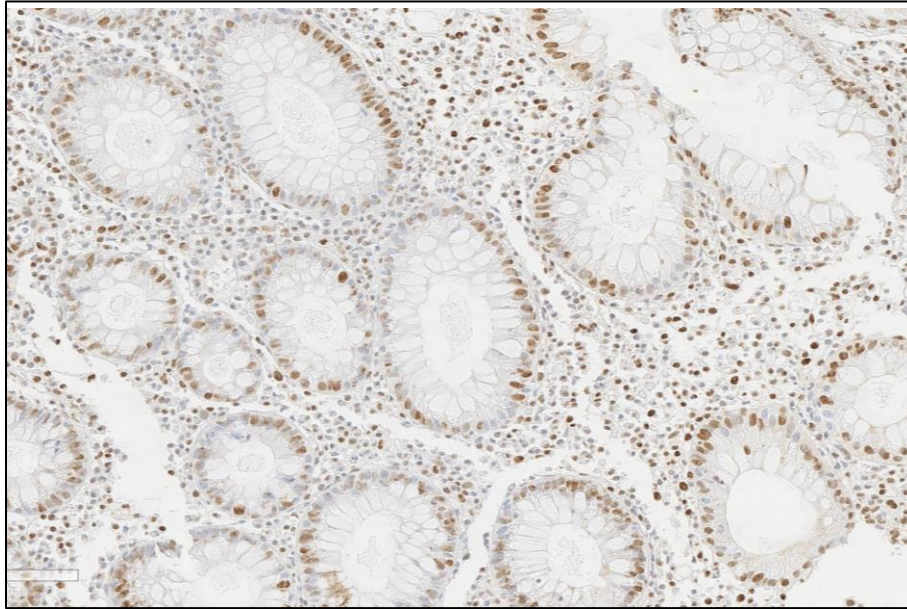
Variables		Expresión de CXCR4			Valor P
		Negativo	Positivo	Total (n=149)	
Fase NANCY	0	0	3 (2)	3 (2)	0.143
	1	5 (3.4)	7 (4.7)	12 (8.1)	
	2	6 (4)	15(10.1)	21 (14.1)	
	3	14 (9.4)	57 (38.3)	71 (47.7)	
	4	16 (10.7)	26 (17.4)	42 (28.2)	
Total		41 (27.5)	108 (72.5)	149	

		Intensidad de CXCR4 en criptas				Total
		1	2	3	No aplica	
Fase NANCY	0	0	0	3	0	3
	1	1	0	4	7	12
	2	2	3	5	11	21
	3	8	13	21	29	71
	4	2	4	10	26	42
Total		13	20	43	73	149

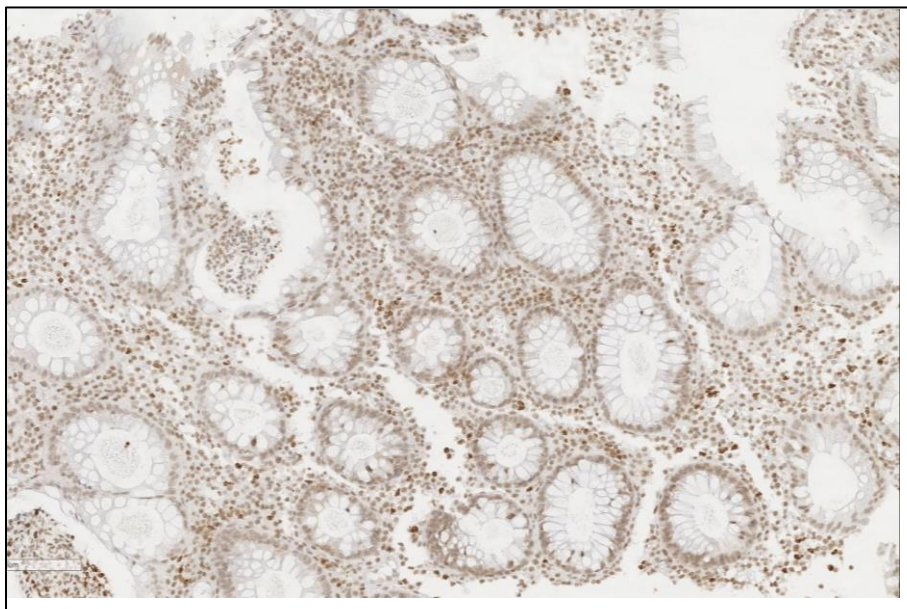
### Correlación de grupo NANCY con expresión de CXCR4

Variables		Expresión de CXCR4			Valor P
		Negativo	Positivo	Total (n=149)	
Fase NANCY	0	0	3 (2)	3 (2)	0.143
	1	5 (3.4)	7 (4.7)	12 (8.1)	
	2	6 (4)	15(10.1)	21 (14.1)	
	3	14 (9.4)	57 (38.3)	71 (47.7)	
	4	16 (10.7)	26 (17.4)	42 (28.2)	
Total		41 (27.5)	108 (72.5)	149	

## PATRONES DE TINCIÓN



*Patrón de tinción discontinuo CXCR4*



*Patrón de tinción discontinuo CXCL17*

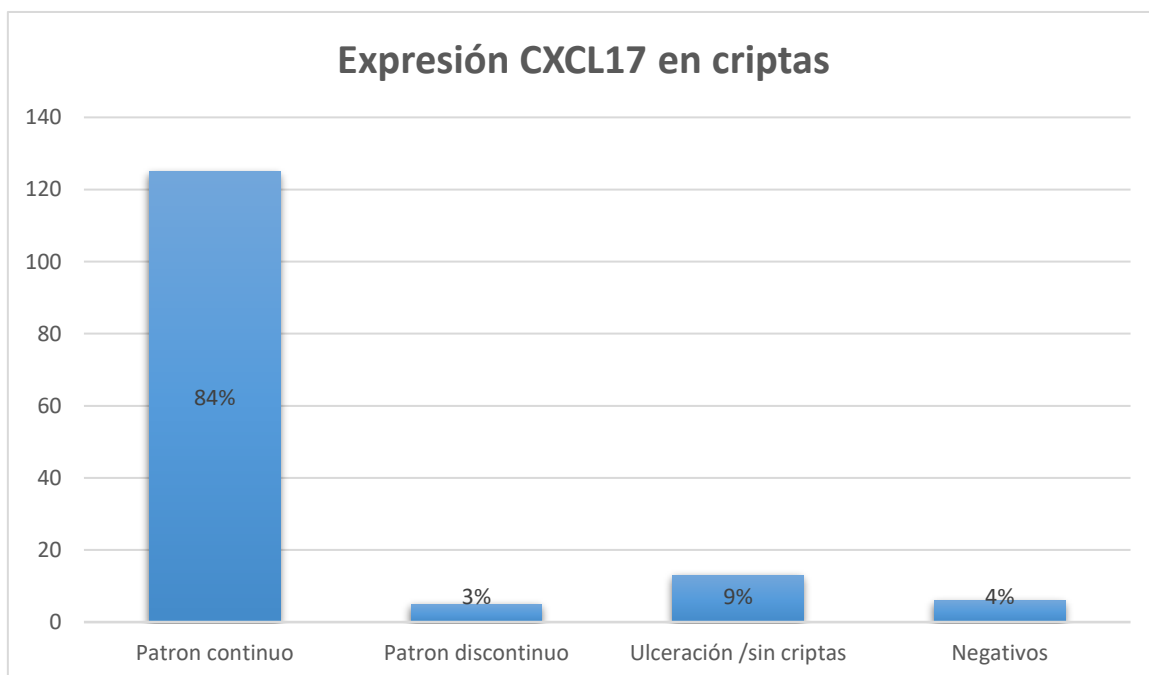
## EXPRESIONES DE CXCL17

Se evaluó la inmunorreactividad en patrón nuclear y citoplasmático.

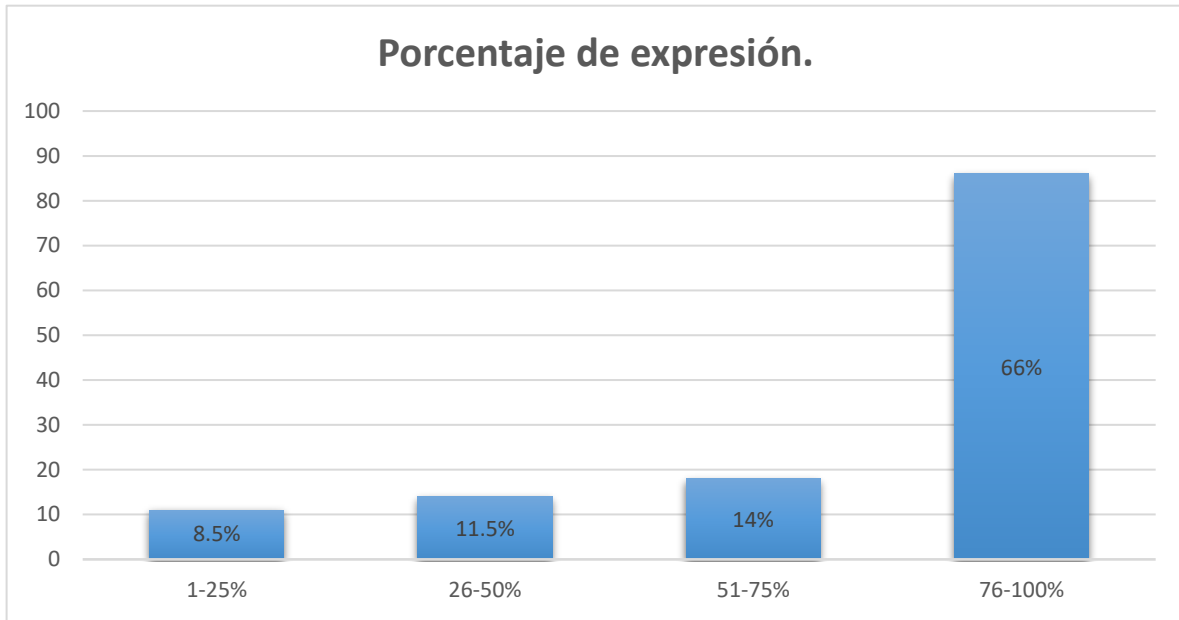
La positividad de expresión de CXCL17 ya sea en criptas o células inflamatorias de la lámina propia se observó en 148 de 149 biopsias.

La positividad evaluada de CXCL17 en criptas resultó de la siguiente manera:

- 125 biopsias (84%) tuvo expresión en patrón continuo.
- Solo 5 biopsias (3.4%) se expresó en patrón discontinuo.
- 13 biopsias presentaban ulceración completa de la mucosa por lo tanto no fue posible evaluar la expresión en criptas.
- 6 biopsias (4%) no tuvieron expresión en criptas.

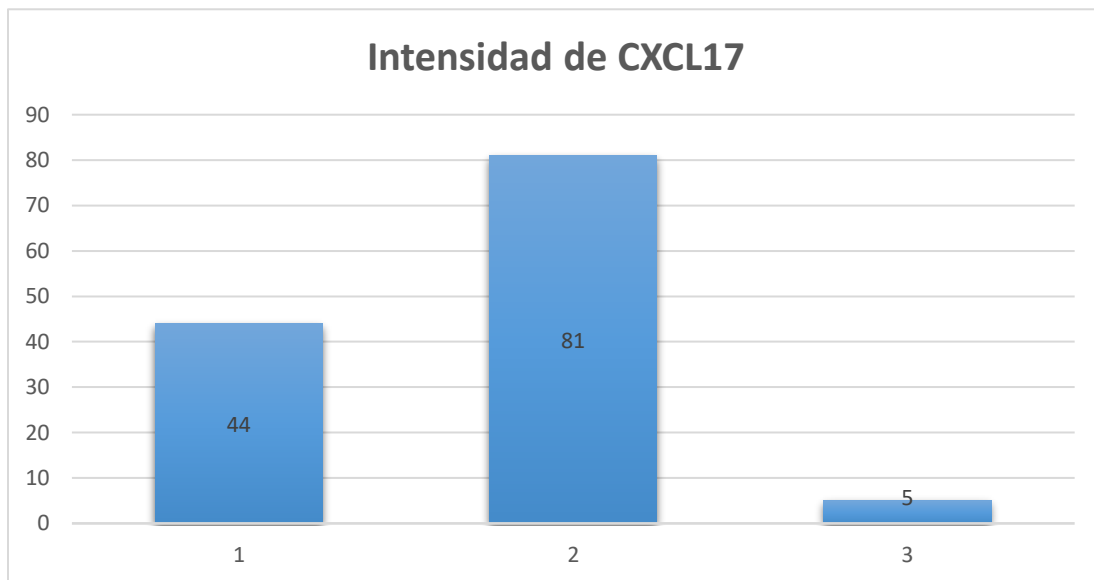


*Gráfica de expresión de CXCL17 en criptas.*



*Gráfica de porcentaje de expresión de CXCL17 en criptas.*

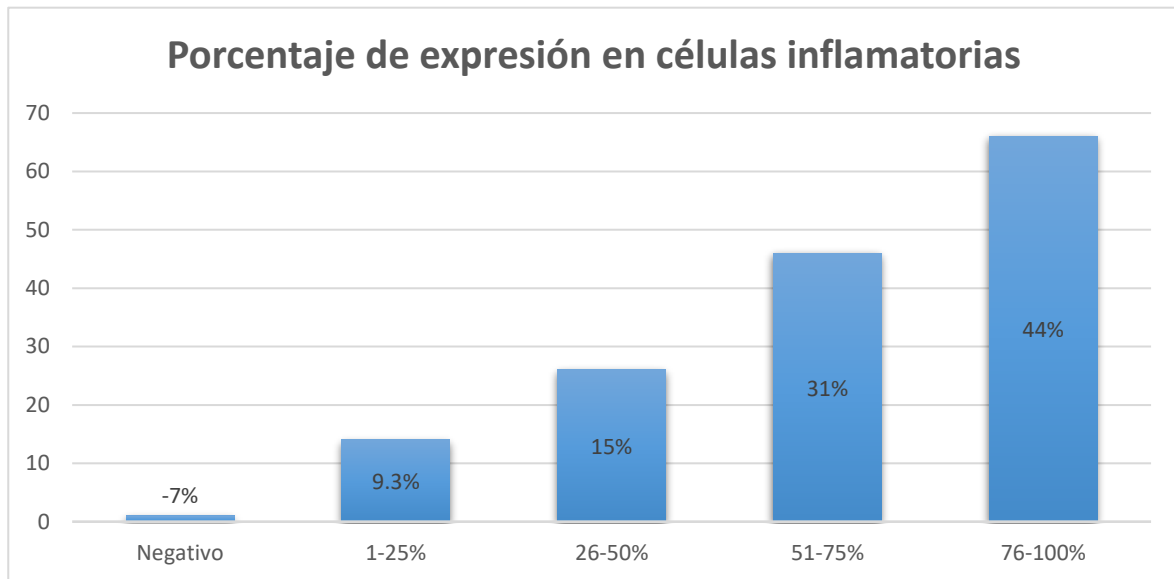
La intensidad de expresión en criptas de las 130 biopsias tuvo la siguiente distribución:



*Gráfica de intensidad de CXCL17 en criptas.*

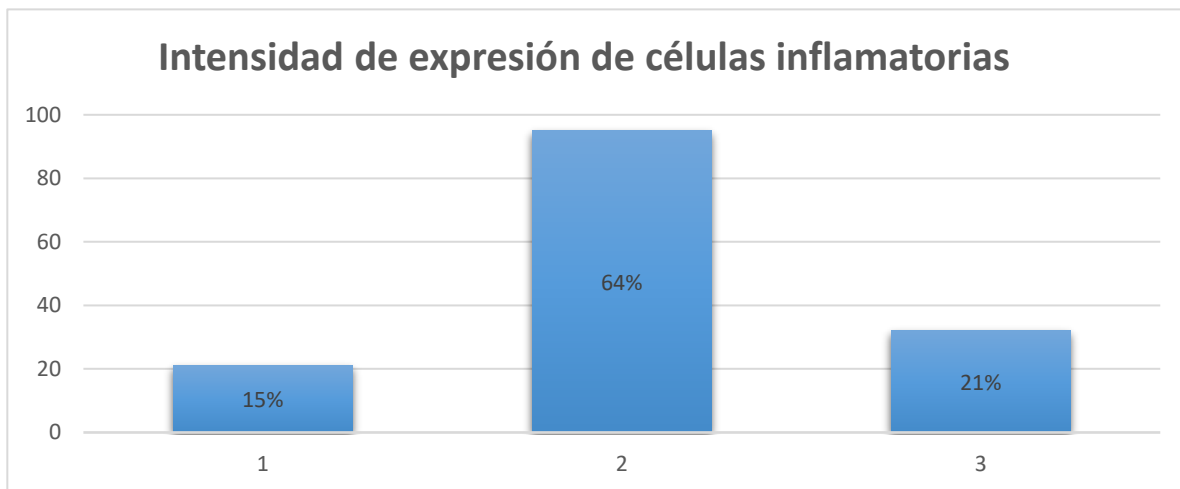
La positividad evaluada de CXCL17 en células inflamatorias resultó de la siguiente manera:





*Gráfica de expresión de CXCL17 en células inflamatorias de lámina propia.*

La intensidad de expresión en células inflamatorias de las 148 biopsias positivas tuvo la siguiente distribución:



*Gráfica de intensidad de CXCL17 en células inflamatorias de la lámina propia.*

Al hacer correlación entre el porcentaje de expresión de CXCL17 en células inflamatorias de la lámina propia y el nivel de actividad de CUCI, se observó que entre mayor inflamación aguda mayor el porcentaje de expresión de CXCL17. Esto con un nivel estadísticamente significativo.

<b>Correlación de grupo NANCY con porcentaje de expresión de CXCR4 en células epiteliales</b>								
Variables		Grupo por porcentaje de expresión de CXCR4 en células epiteliales (%)						Valor P
		Negativo	1%-25%	26%-50%	51%-75%	76%-100%	Total (n=149)	
Fase NANCY	0	0	0	3 (2)	0	0	3 (2)	0.004
	1	7 (4.7)	1 (0.7)	1 (0.7)	1 (0.7)	2 (1.3)	12 (8.1)	
	2	11 (7.4)	4 (2.7)	1 (0.7)	3 (2)	2 (1.3)	21 (14.1)	
	3	29 (19.5)	15 (10.1)	9 (6)	4 (2.7)	14 (9.4)	71 (47.7)	
	4	27 (18.1)	8 (5.4)	4 (2.7)	1 (0.7)	2 (1.3)	42 (28.2)	
Total		74 (49.7)	28 (18.8)	18 (12.1)	9 (6)	20 (13.4)	149	

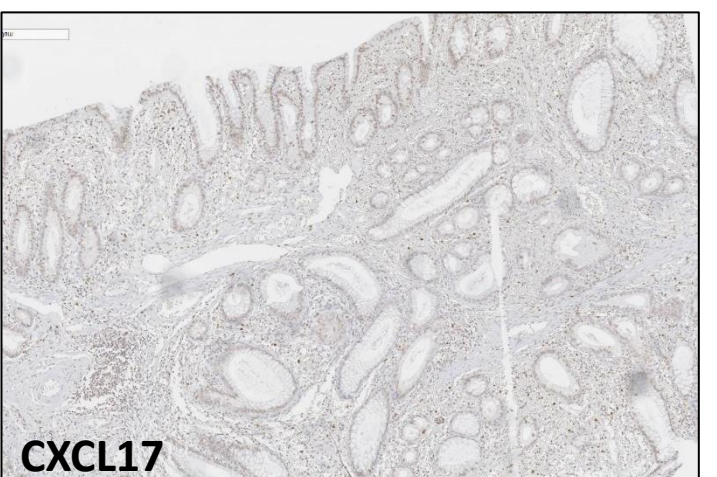
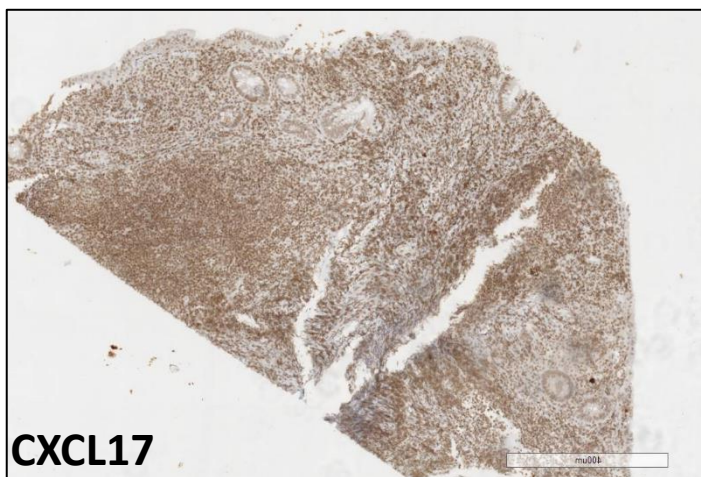
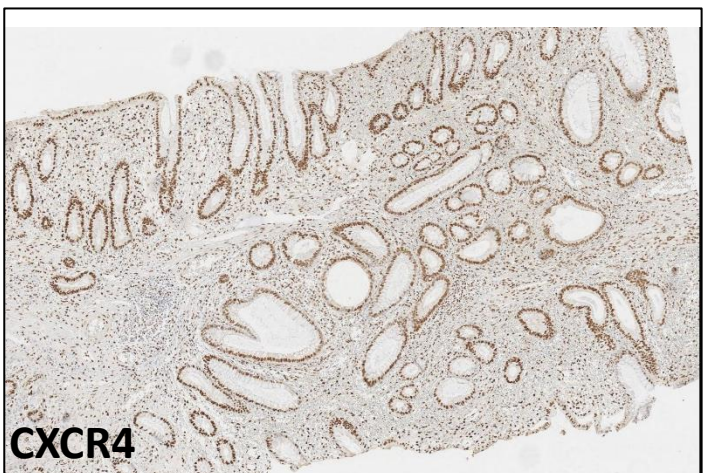
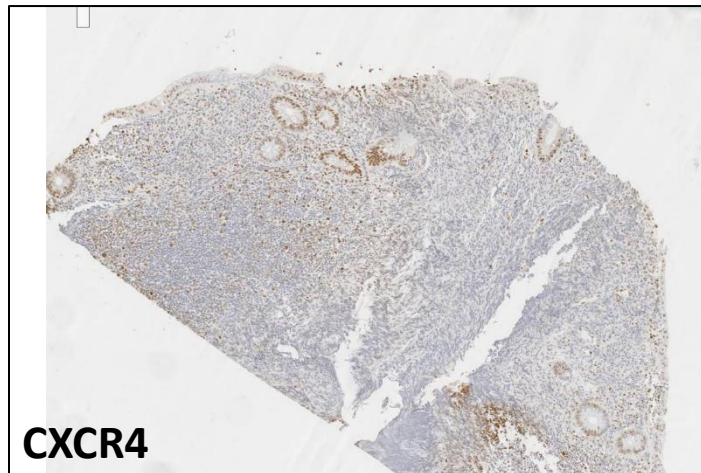
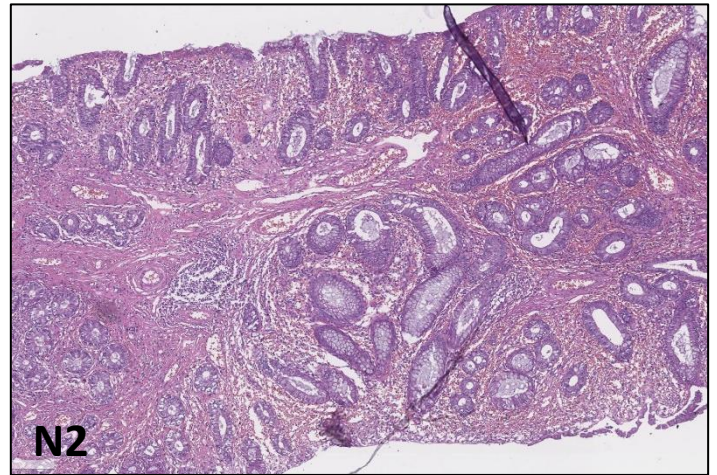
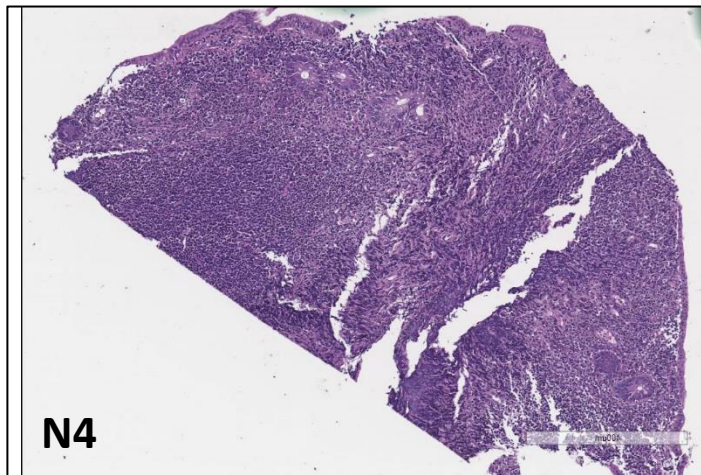
Al hacer correlación entre la fase de actividad de Nancy y el porcentaje de expresión de CXCL17 en criptas no se observó una tendencia que marcara pauta.

		Grupo por porcentaje de expresión CXCL17					Total
		Negativo	1-25%	26-50%	51-75%	76-100%	
Fase NANCY	0	0	0	0	0	3	3
	1	1	0	2	1	8	12
	2	1	4	2	4	10	21
	3	5	5	6	8	47	71
	4	12	2	4	5	18	41
Total		19	11	14	18	86	148

Count

		Intensidad de CXCL17 en criptas				Total
		1	2	3	No aplica	
Fase NANCY	0	1	2	0	0	3
	1	5	6	0	1	12
	2	13	6	1	1	21
	3	17	48	1	5	71
	4	8	19	3	12	42
Total		44	81	5	19	149

## EXPRESIÓN DE CXCR4 Y CXCL17 VS NANCY

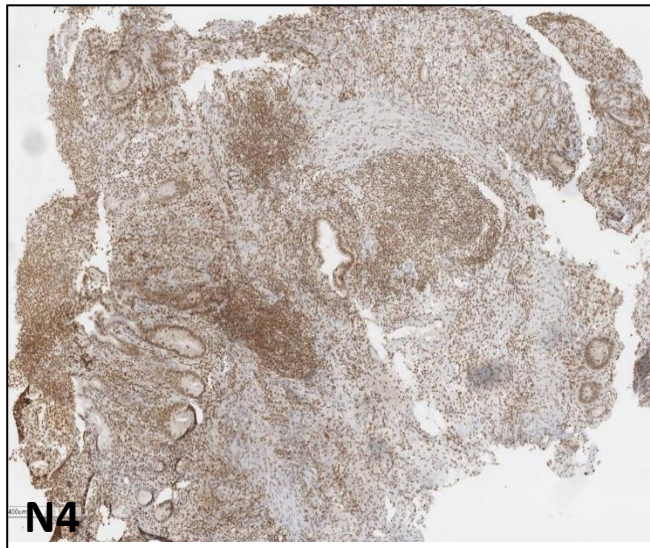


*Comparación la expresión de ambos marcadores en diferentes fases de Nancy.*

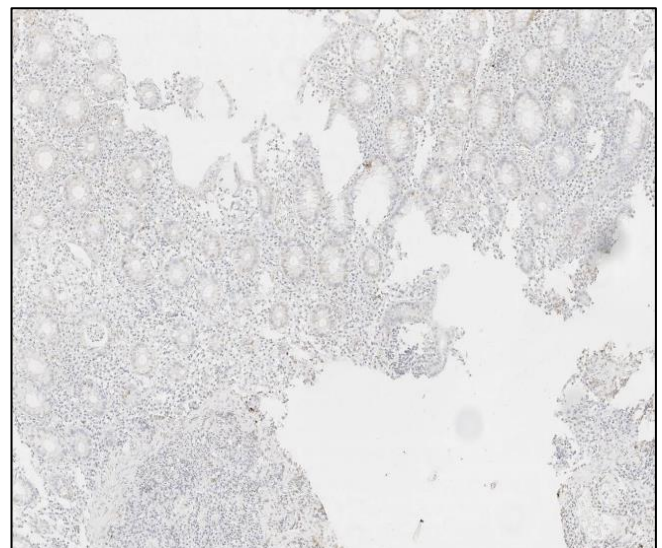
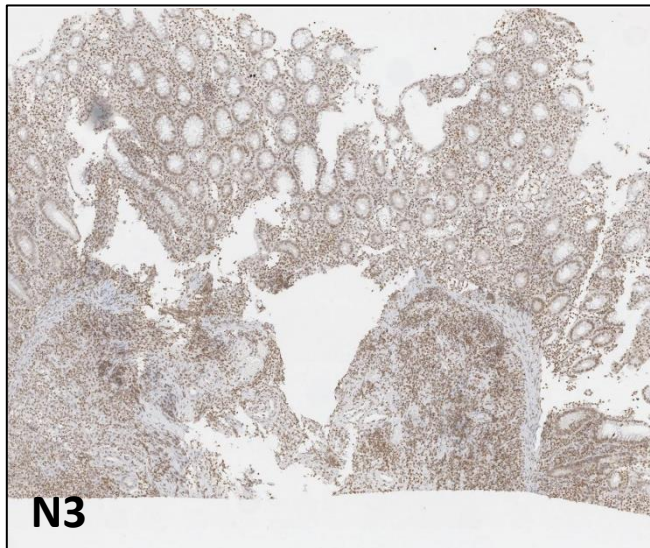
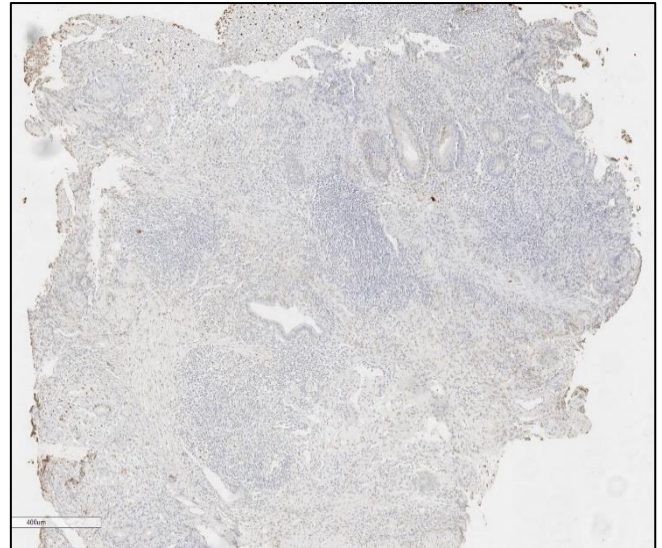


## EXPRESIÓN DE CXCR4 Y CXCL17 EN NANCY 4 Y 3

**CXCL17**



**CXCR4**



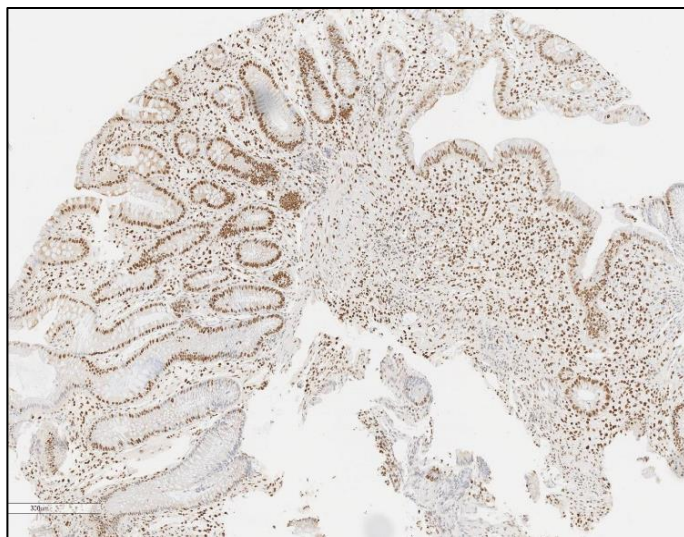
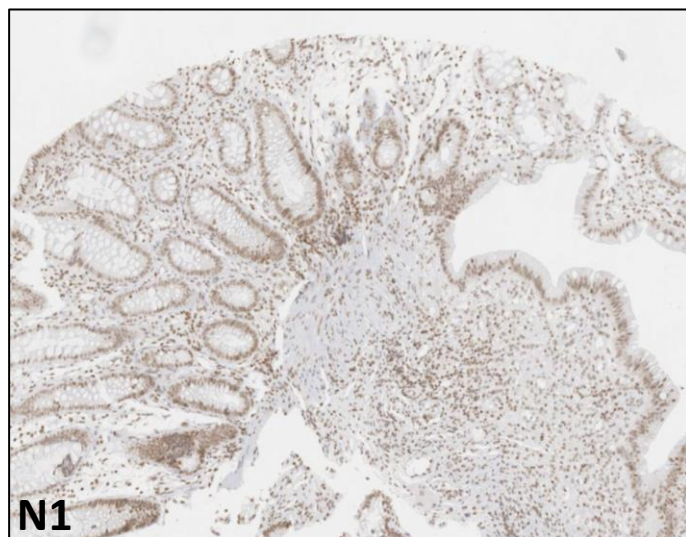
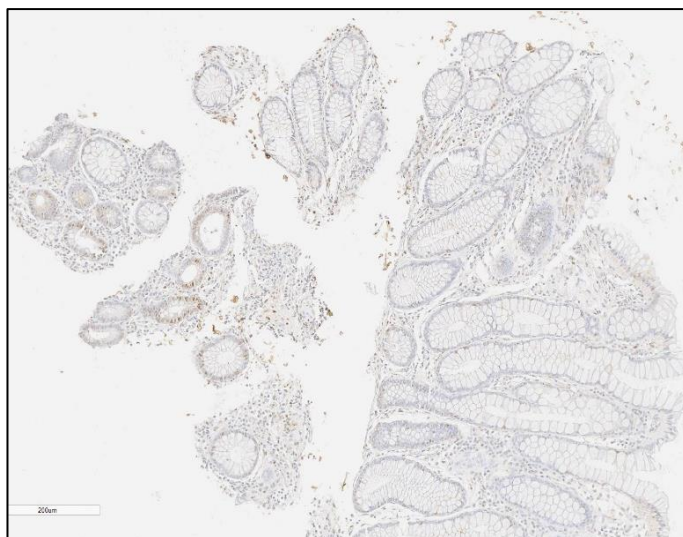
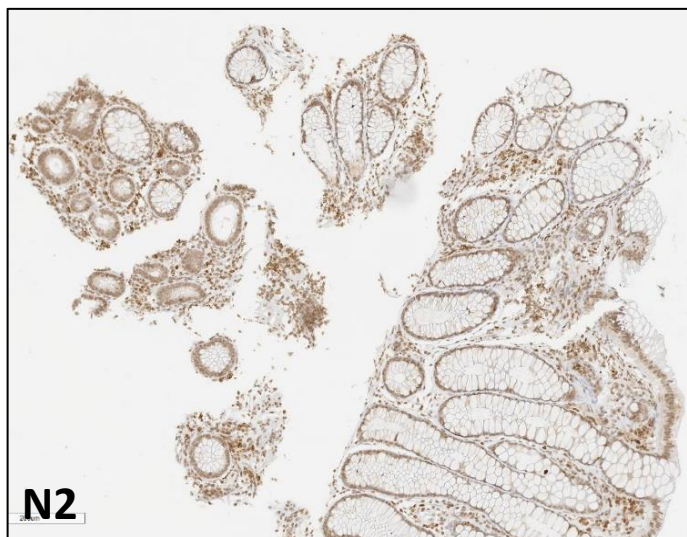
*Comparación la expresión de ambos marcadores en fases moderada y severa de Nancy.*



## EXPRESIÓN DE CXCR4 Y CXCL17 EN NANCY 2 Y 1

**CXCL17**

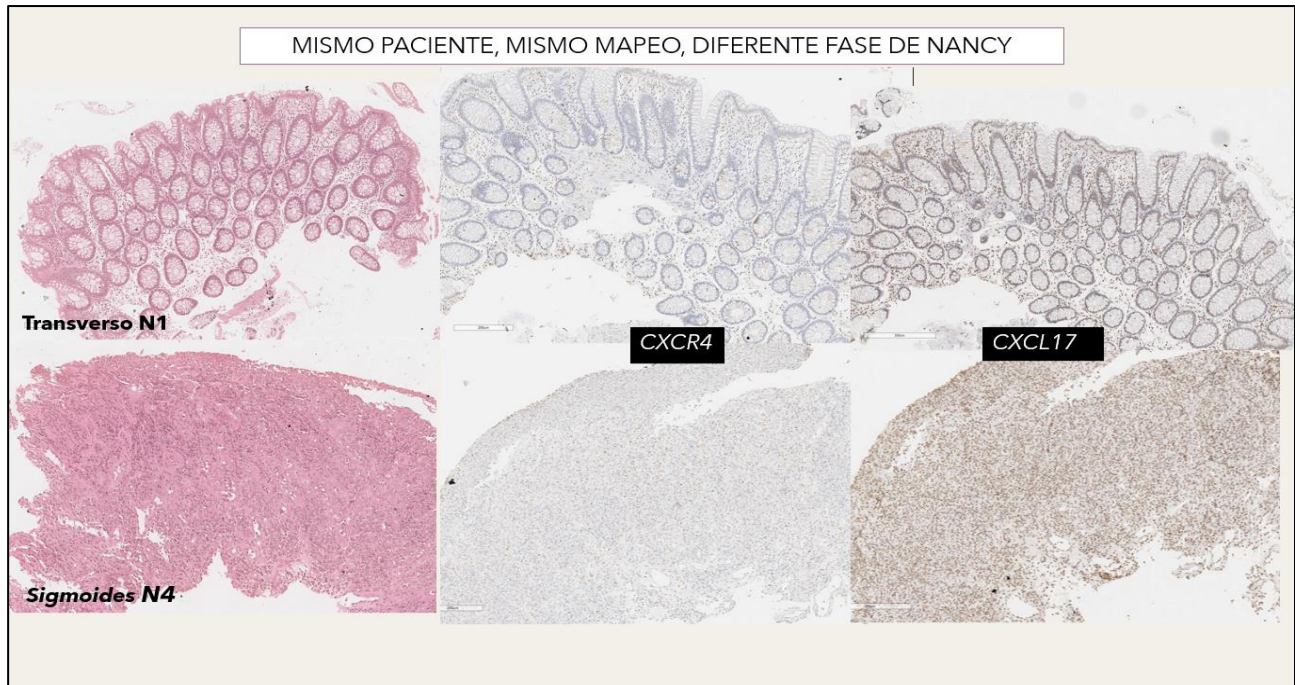
**CXCR4**



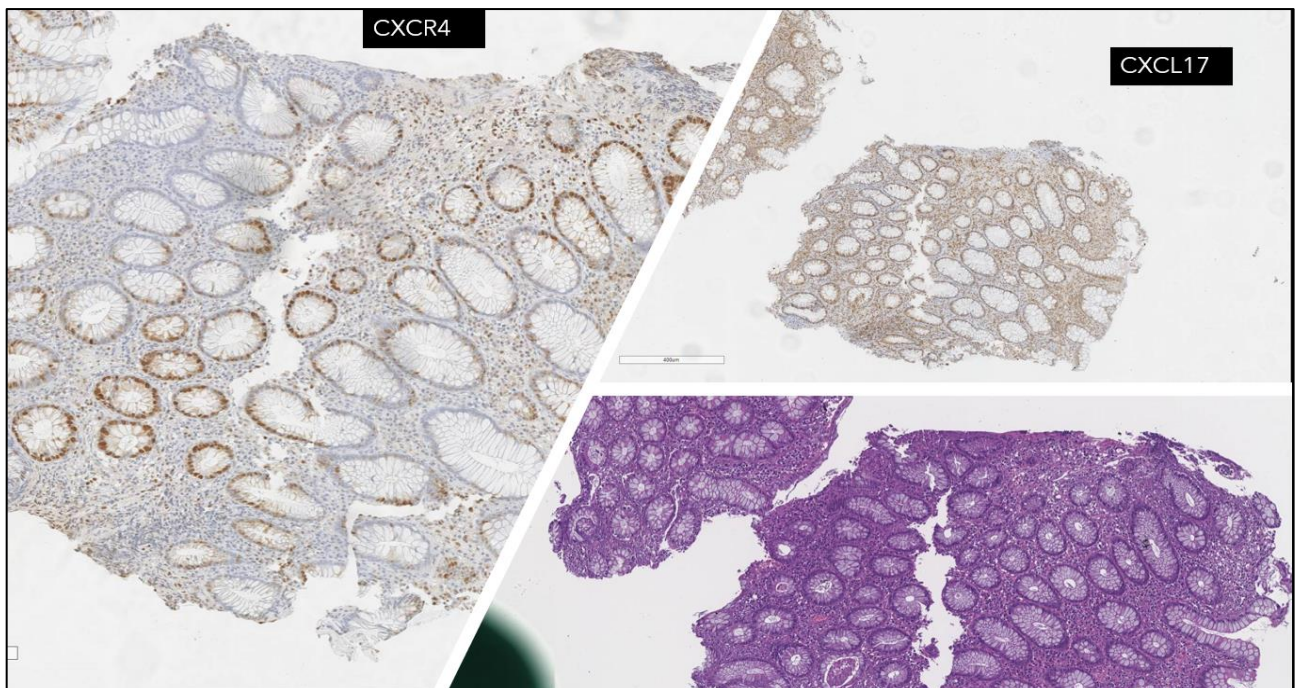
*Comparación la expresión de ambos marcadores en fases activa leve (2) y fase inflamatoria crónica (1) de Nancy.*



## EXPRESIÓN DE CXCR4 Y CXCL17



*En imagen superior comparación de los marcadores en diferentes fases de Nancy pero mismo paciente. En imagen inferior un fenómeno observado con algunos casos, tinción en parche.*



## DISCUSIÓN

Las quimiocinas son proteínas pequeñas que actúan como quimiotácticas de los leucocitos y su disposición de residuos de cisteína las permite dividirse en cuatro familias, cada familia tiene una mayor predilección por leucocitos diferentes. El grupo C-X-C es la familia más grande con 17 ligandos de quimiocinas descritas y tienen predilección por los polimorfonucleares. CXCL17 y el receptor CXCR4 son dos integrantes de la familia C-X-C en los que enfocamos esta investigación.

En estudios previos se demostró que CXCR4 se expresa en las criptas del colon con mayor intensidad y acentuación en la parte basal, por lo que se cree que podría estar involucrado en la diferenciación de células epiteliales progenitoras. Esto último, concuerda con otros hallazgos en los que se describe que probablemente el receptor CXCR4 participe en la regeneración del epitelio colónico cuando existe una lesión. Inclinando más la función del CXCR4 a una actividad homeostática como ha sido considerado en otras enfermedades inmunológicas. Sin embargo, hasta el momento no existen estudios que evidencien la participación de CXCR4 en humanos con enfermedad inflamatoria intestinal; solo se ha descrito que murinos con CUCI inducida por medicamentos, al administrarles antagonistas de CXCR4 contribuye a disminuir la inflamación del colon y la producción del TNF $\alpha$ .

Este estudio demuestra que existe una expresión de CXCR4 en biopsias de pacientes con enfermedad de CUCI. La expresión de este tiene un patrón discontinuo con intensidad de 2 a 3 en diferentes porcentajes; mientras la expresión en células inflamatorias de la lámina se expresó en casi la mitad con porcentajes bajos, pero con alta intensidad. Además, se observó que existe una tendencia que entre más actividad inflamatoria más probabilidad de la pérdida de la expresión de CXCR4; por lo que podría considerarse que la función de este receptor este mas asociado a inflamación de tipo crónico u homeostasis como ha sido descrito anteriormente.

CXCL17, por otra parte, es una quimiocina descrita recientemente, por lo que el conocimiento sobre esta proteína es más reducido. Sabemos que tiene actividad antimicrobiana, es proangiogénica, se expresa en mucosas como el colón y se



expresa bajo condiciones inflamatorias de este último. Sin embargo, las únicas enfermedades inflamatorias con las que se ha asociado es fibrosis pulmonar, psoriasis y asma. Lo más relacionado que se ha descrito de la quimiocina en CUCI, es que se une al receptor CXCR8 y este se ha asociado con mayor expresión en la Colitis Ulcerativa crónica Inespecífica y colangitis esclerosante primaria.

Este estudio también demuestra la expresión de la quimiocina CXCL17 con patrón continuo en criptas, con menor intensidad, pero mayor porcentaje de expresión tanto en criptas como en células inflamatorias de la lámina propia, sobre todo en relación directa a la inflamación por lo que podemos inferir que esta quimiocina podría estar más relacionada con la inflamación aguda.

De hecho, parece existir una relación inversa entre la expresión de la citocina versus la expresión del receptor con lo que se fundamenta la hipótesis de que probablemente el CXCL17 como molécula de señalización no se una al receptor CXCR4, pese a que son de la misma familia, en pacientes con CUCI.

Analizando que parece existir una relación inversa en la expresión de los marcadores, CXCR4 más en inflamación crónica o regeneración, Nancy 2 y CXCL17 en inflamación activa severa, decidimos realizarles ambos marcadores a diferentes biopsias de diferentes segmentos del colon, con diferente escala de Nancy, de un paciente en la misma endoscopia. No obstante, no se observó diferencia significativa en la expresión de ambos. Fomentando la posibilidad de que la expresión de quimiocinas se trate más de un evento sistémico que de una expresión localizada.

Una de las desventajas que se pueden mencionar del estudio es que el objetivo inicial era demostrar si existía o no expresión de los marcadores en la enfermedad de CUCI por lo que se seleccionó las biopsias de cada mapeo con mayor índice de Nancy, es decir con más actividad inflamatoria, esperando una mayor expresión de citocinas. Por eso no existen grupos comparativos con el índice de actividad vs expresión del marcador, solo se reduce a un fenómeno observado durante la investigación.

## CONCLUSIONES

Gracias a la globalización de la información y el conocimiento, el avance en la medicina durante las últimas décadas ha sido exponencial; tal es su magnitud que el estudio de la fisiopatología en las enfermedades ha ido hasta nivel molecular. En el que se describe la interacción de las células inmunes con proteínas, receptores, moléculas de señalización y sustancias químicas que favorecen la patogénesis de las enfermedades.

Estudiar la génesis de las enfermedades a nivel inmune y molecular ha permitido el desarrollo de medicamentos como los inmunomoduladores, sustancias químicas con la capacidad de aumentar o disminuir la respuesta inmune. Sin embargo, la inmunopatogenesis es tan amplia que es necesario estudios más extensivos para describir cada molécula de señalización que participa en cada enfermedad.

Este protocolo de investigación es un primer estudio que evalúa y demuestra la expresión por inmunohistoquímica de la citocina CXCL17 y el receptor CXCR4 en biopsias de pacientes con enfermedad de Colitis Ulcerativa Crónica Inespecífica y predominio de actividad inflamatoria moderada a severa. Por lo tanto, consideramos que es necesario continuar con la línea de investigación para demostrar la expresión de estos en diferentes fases de actividad inflamatoria, así como un estudio comparativo representado por pacientes sin enfermedad de CUCI.

De esta manera poder contribuir al desarrollo e implementación de medicamentos inmunomoduladores que es el objetivo prometedor en la nueva era de la medicina revolucionando hacia un tratamiento mas dirigido en esta enfermedad inflamatoria intestinal.

## Bibliografia

1. Sabatino A Di, Lenti MV, Giuffrida P, Vanoli A, Corazza GR. New insights into immune mechanisms underlying autoimmune diseases of the gastrointestinal tract. *Autoimmun Rev* [Internet]. 2015; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2015.08.004>
2. Hyon J, Peyrin-biroulet L, Eisenhut M, Il J. Autoimmunity Reviews In inflammatory Bowel Diseases ( IBD ) immunopathogenesis : A comprehensive review of inflammatory molecules. 2017;16:416–26.
3. Zlotnik. The Chemokine Superfamily Revisited NIH Public Access. *Bone*. 2011;23(1):1–7.
4. Vinay Kumar, Abul K Abbas, Jon CA. Robbins and Cotran Pathologic Basic of Disease. 2015.
5. Cole AM, Ganz T, Liese AM, Burdick MD, Liu L, Strieter RM. Cutting Edge: IFN-Inducible ELR – CXC Chemokines Display Defensin-Like Antimicrobial Activity . *J Immunol*. 2001;167(2):623–7.
6. Belperio JA, Keane MP, Arenberg DA, Addison CL, Ehlert JE, Burdick MD, et al. CXC chemokines in angiogenesis. *J Leukoc Biol*. 2000;68(1):1–8.
7. Hernández-Ruiz M, Zlotnik A. Mucosal chemokines. *J Interf Cytokine Res*. 2017;37(2):62–70.
8. Lee WY, Wang CJ, Lin TY, Hsiao CL, Luo CW. CXCL17, an orphan chemokine, acts as a novel angiogenic and anti-inflammatory factor. *Am J Physiol - Endocrinol Metab*. 2013;304(1):32–40.
9. Burkhardt AM. CXCL17 is a Mucosal Chemokine elevated in idiopathic pulmonary fibrosis that exhibits broad antimicrobial activity NIH Public Access. *J Immunol*. 2012;23(1):1–7.

10. Oka T, Sugaya M, Takahashi N, Takahashi T, Shibata S, Miyagaki T, et al. CXCL17 Attenuates Imiquimod-Induced Psoriasis-like Skin Inflammation by Recruiting Myeloid-Derived Suppressor Cells and Regulatory T Cells. *J Immunol.* 2017;198(10):3897–908.
11. Pisabarro MT, Leung B, Kwong M, Corpuz R, Frantz GD, Chiang N, et al. Cutting Edge: Novel Human Dendritic Cell- and Monocyte-Attracting Chemokine-Like Protein Identified by Fold Recognition Methods. *J Immunol.* 2006;176(4):2069–73.
12. Matsui A, Yokoo H, Negishi Y, Endo-Takahashi Y, Chun NAL, Kadouchi I, et al. CXCL17 Expression by Tumor Cells Recruits CD11b+Gr1highF4/80- Cells and Promotes Tumor Progression. *PLoS One.* 2012;7(8):1–11.
13. Ohlsson L, Hammarström ML, Lindmark G, Hammarström S, Sitohy B. Ectopic expression of the chemokine CXCL17 in colon cancer cells. *Br J Cancer.* 2016;114(6):697–703.
14. Rashad Y, Olsson L, Israelsson A, Öberg Å, Lindmark G, Hammarström ML, et al. Lymph node CXCL17 messenger RNA: A new prognostic biomarker for colon cancer. *Tumor Biol.* 2018;40(9):1–10.
15. Guo YJ, Zhou YJ, Yang XL, Shao ZM, Ou ZL. The role and clinical significance of the CXCL17-CXCR8 (GPR35) axis in breast cancer. *Biochem Biophys Res Commun [Internet].* 2017;493(3):1159–67. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.09.113>
16. Wang L, Li H, Zhen Z, Ma X, Yu W, Zeng H, et al. CXCL17 promotes cell metastasis and inhibits autophagy via the LKB1-AMPK pathway in hepatocellular carcinoma. *Gene.* 2019;690(December 2018):129–36.
17. Hiraoka N, Yamazaki-Itoh R IY. CXCL17 and ICAM2 are associated with a potential anti-tumor immune response in early intraepithelial stages of human pancreatic carcinogenesis. *Gastroenterology.* 2011;140:310–321.
18. Maravillas-Montero\* JL. GPR35/CXCR8 IS THE RECEPTOR OF THE

MUCOSAL CHEMOKINE CXCL17 HHS Public Access. J Immunol. 2016;176(1):100–106.

19. Okumura SI, Baba H, Kumada T, Nanmoku K, Nakajima H, Nakane Y, et al. Cloning of a G-protein-coupled receptor that shows an activity to transform NIH3T3 cells and is expressed in gastric cancer cells. *Cancer Sci*. 2004;95(2):131–5.
20. Ellinghaus D, Folseraas T, Holm K, Ellinghaus E, Melum E, Balschun T, et al. Genome-wide association analysis in primary sclerosing cholangitis and ulcerative colitis identifies risk loci at GPR35 and TCF4. *Hepatology*. 2013;58(3):1074–83.
21. Carl W White Kevin Pfleger Stephen J Hill. Inhibition of CXCR4 signalling and ligand binding by CXCL17. *Fed Am Soc Exp Biol*. 2019;33:503.8-503.8.
22. Teixidó J, Martínez-Moreno M, Díaz-Martínez M, Sevilla-Movilla S. The good and bad faces of the CXCR4 chemokine receptor. *Int J Biochem Cell Biol* [Internet]. 2018;95:121–31. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2017.12.018>
23. Murdoch C. CXCR4: Chemokine receptor extraordinaire. *Immunol Rev*. 2000;177:175–84.
24. Hernández-López C, Varas A, Sacedón R, Jiménez E, Muñoz JJ, Zapata AG, et al. Stromal cell-derived factor 1/CXCR4 signaling is critical for early human T-cell development. *Blood*. 2002;99(2):546–54.
25. Bernhagen J, Krohn R, Lue H, Gregory JL, Zernecke A, Koenen RR, et al. MIF is a noncognate ligand of CXC chemokine receptors in inflammatory and atherogenic cell recruitment. *Nat Med*. 2007;13(5):587–96.
26. García-Cuesta EM, Santiago CA, Vallejo-Díaz J, Juarranz Y, Rodríguez-Frade JM, Mellado M. The Role of the CXCL12/CXCR4/ACKR3 Axis in Autoimmune Diseases. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10(August):1–16.
27. Jordan NJ, Kolios G, Abbot SE, Sinai MA, Thompson DA, Petraki K, et al.

Expression of functional CXCR4 chemokine receptors on human colonic epithelial cells. *J Clin Invest*. 1999;104(8):1061–9.

28. Smith JM, Johanesen PA, Wendt MK, Binion DG, Dwinell MB. CXCL12 activation of CXCR4 regulates mucosal host defense through stimulation of epithelial cell migration and promotion of intestinal barrier integrity. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol*. 2005;288(2 51-2):316–26.
29. Qin L, Lv X, Lv X, Zhan L, Liao J, Qin J, et al. Association between CXCL12 and CXCR4 polymorphisms and inflammatory bowel disease risk in a Guangxi Zhuang population. *Int J Clin Exp Med*. 2017;10(1):434–41.
30. Mrowicki J, Przybylowska-Sygut K, Dziki L, Sygut A, Chojnacki J, Dziki A, et al. The role of polymorphisms of genes CXCL12/CXCR4 and MIF in the risk development IBD the Polish population. *Mol Biol Rep*. 2014;41(7):4639–52.
31. Zheng X Bin, He XW, Zhang LJ, Qin HB, Lin XT, Liu XH, et al. Bone marrow-derived CXCR4-overexpressing MSCs display increased homing to intestine and ameliorate colitis-associated tumorigenesis in mice. *Gastroenterol Rep*. 2019;7(2):127–38.
32. Wang M, Yuan Q, Xie L. Mesenchymal stem cell-based immunomodulation: Properties and clinical application. *Stem Cells Int*. 2018;2018.
33. Werner L, Guzner-Gur H, Dotan I. Involvement of CXCR4/CXCR7/CXCL12 interactions in inflammatory bowel disease. *Theranostics*. 2013;3(1):40–6.
34. Dotan I, Werner L, Vigodman S, Weiss S, Brazowski E, Maharshak N, et al. CXCL12 is a constitutive and inflammatory chemokine in the intestinal immune system. *Inflamm Bowel Dis*. 2010;16(4):583–92.
35. Choi EYK, Appelman HD. Chronic Colitis in Biopsy Samples: Is It Inflammatory Bowel Disease or Something Else? *Surg Pathol Clin* [Internet]. 2017;10(4):841–61. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.path.2017.07.005>
36. Ananthakrishnan AN, Kaplan GG, Ng SC. Changing Global Epidemiology of

Inflammatory Bowel Diseases: Sustaining Health Care Delivery into the 21st Century. Clin Gastroenterol Hepatol [Internet]. 2020; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2020.01.028>

37. Keyashian K, Dehghan M, Sceats L, Kin C, Limketkai BN, Park KT. Comparative incidence of inflammatory bowel disease in different age groups in the United States. Inflamm Bowel Dis. 2019;25(12):1983–9.
38. Yamamoto-Furusho JK, Gutiérrez-Grobe Y, López-Gómez JG, Bosques-Padilla F, Rocha-Ramírez JL. The Mexican consensus on the diagnosis and treatment of ulcerative colitis. Rev Gastroenterol Mex [Internet]. 2018;83(2):144–67. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.rgmex.2017.08.006>
39. Bosques-Padilla FJ, Sandoval-García ER, Martínez-Vázquez MA, Garza-González E, Maldonado-Garza HJ. Epidemiología y características clínicas de la colitis ulcerosa crónica idiopática en el noreste de México. Rev Gastroenterol Mex. 2011;76(1):34–8.
40. Thia KT, Loftus E V., Pardi DS, Kane S V., Faubion WA, Tremaine WJ, et al. Measurement of disease activity in ulcerative colitis: Interobserver agreement and predictors of severity. Inflamm Bowel Dis. 2011;17(6):1257–64.
41. Annese V, Daperno M, Rutter MD, Amiot A, Bossuyt P, East J, et al. European evidence based consensus for endoscopy in inflammatory bowel disease. J Crohn's Colitis [Internet]. 2013;7(12):982–1018. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.crohns.2013.09.016>
42. Chang MD, Liu X. Overview of Histopathology of Ulcerative Colitis and Crohn's Disease [Internet]. Interventional Inflammatory Bowel Disease: Endoscopic Management and Treatment of Complications. Elsevier Inc.; 2018. 49–68 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-811388-2.00005-1>
43. Villanacci V, Reggiani-Bonetti L, Caprioli F, Saragoni L, Salviato T, Mescoli

C, et al. Histopathology of inflammatory bowel disease — Position statement of the Pathologists of the Italian Group for the Study of Inflammatory Bowel Disease (IG-IBD) and Italian Group of Gastrointestinal Pathologists (GIPAD-SIAPEC). *Dig Liver Dis* [Internet]. 2020;52(3):262–7. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.dld.2019.11.005>

44. DeRoche TC, Xiao SY, Liu X. Histological evaluation in ulcerative colitis. *Gastroenterol Rep*. 2014;2(3):178–92.
45. Mosli MH, Parker CE, Nelson SA, Baker KA, Macdonald JK, Zou GY, et al. Histologic scoring indices for evaluation of disease activity in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;2017(5).
46. Marchal-Bressenot A, Salleron J, Boulagnon-Rombi C, Bastien C, Cahn V, Cadiot G, et al. Development and validation of the Nancy histological index for UC. *Gut*. 2017;66(1):43–9.